

Kollagencrosslinkausscheidung bei Spondylitis
ankylosans, Korrelation zu klinischen Parametern und
Vergleich mit anderen Patientenkollektiven

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae
(Dr. med)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Christian Bölzner
geboren am 14.04.75 in Baden-Baden.

Gutachter

1. Prof. Dr. Hein
2. Prof. Dr. Uhlemann
3. Prof. Dr. Nüsslein

Tag der öffentlichen Verteidigung: 02.12.2002

INHALTSVERZEICHNIS

1.	Einleitung	5
1.1	Spondylitis ankylosans	5
1.1.1	Allgemeines und Epidemiologie	5
1.1.2	Ätiologie, Pathogenese und Verlauf	5
1.1.3	Diagnose und Therapie	7
1.2	Bedeutung der Knochenumbauvorgänge bei der Spondylitis ankylosans	8
1.3	Marker des Knochenmetabolismus	9
1.4	Kollagencrosslinks als biochemische Marker der Knochen- und Knorpeldegeneration	10
1.4.1	Synthese und Struktur der Kollagencrosslinks	10
1.4.2	Vorkommen und Gewebsverteilung der Kollagencrosslinks	10
1.4.3	Messungen der Kollagencrosslinks in Urin und Serum	11
1.4.4	Kollagencrosslinks beim Gesunden - Einflussfaktoren auf die Ausscheidung	12
1.4.5	Bedeutung der Kollagencrosslinkquantifizierung bei anderen Erkrankungen	13
1.4.6	Kollagencrosslinks bei Spondylitis ankylosans	14
1.5	Zielstellung	15
2.	Patienten und Methoden	16
2.1	Patienten	16
2.1.1	Datenerfassung und epidemiologische Angaben	16
2.1.2	Untersuchungsmaterial	18
2.1.3	Normalkontrollen und Patientenkollektive	19
2.2	Methoden	19
2.2.1	Bestimmung von Pyridinolin und Desoxypyridinolin	19
2.2.2	Bestimmung der Entzündungsparameter	20
2.3	Statistik	21

3.	Ergebnisse	22
3.1	Korrelationsuntersuchungen zwischen den Urinspiegeln der Kollagencrosslinks und verschiedenen klinischen Parametern Mittelwertevergleich zwischen einzelnen Untergruppen in Bezug auf Pyridinium Crosslinks im Urin	22
3.1.1	Kollagencrosslinks und C-reaktives Protein (CRP)	22
3.1.2	Kollagencrosslinks und Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG)	25
3.1.3	Kollagencrosslinks und Krankheitsdauer	28
3.1.4	Kollagencrosslinks und Schober'sches Bewegungsmaß	29
3.1.5	Kollagencrosslinks und Finger-Boden-Abstand	31
3.1.6	Kollagencrosslinks und NSAR-Einnahme	33
3.1.7	Kollagencrosslinks und Sacroilitis	36
3.1.8	Kollagencrosslinks und Syndesmophytenbildung	36
3.1.9	Kollagencrosslinks und periphere Gelenkbeteiligung	38
3.2	Vergleich der bei SPA ermittelten Kollagencrosslinks mit Normalkontrollen und anderen Krankheitskollektiven	40
3.2.1	SPA und Normalkontrollen	41
3.2.2	SPA und RA	43
3.2.3	SPA und Osteoporose	46
3.2.4	Mittelwertevergleich der einzelnen Kollektive in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht	48
3.3	Betrachtung zur peripheren Gelenkbeteiligung	51
4.	Diskussion	52
5.	Zusammenfassung	67
6.	Abkürzungsverzeichnis	69
7.	Literaturverzeichnis	70
8.	Anhang	87
	Danksagung	
	Ehrenwörtliche Erklärung	
	Lebenslauf	

1. EINLEITUNG

1.1 Spondylitis ankylosans

1.1.1 Allgemeines und Epidemiologie

Degenerative und entzündliche Erkrankungen des Binde- und Stützgewebes zählen mit einem Anteil von 15-25% zu den häufigsten Gründen für einen Arztbesuch und als Ursache für Arbeitsunfähigkeit [42]. Sie führen zur Beeinträchtigung der Lebensqualität bis hin zur Berufs- bzw. Erwerbsunfähigkeit und in schweren Fällen sogar zu einer eingeschränkten Lebenserwartung [101].

Eine zu den chronischen, entzündlich-rheumatischen Erkrankungen zählende Entität ist die Spondylitis ankylosans (Spa). Die Spa beginnt meist zwischen dem 16. und 40. Lebensjahr, mit einem Gipfel im dritten Lebensjahrzehnt. Die Morbiditätsrate der Bevölkerung wird auf 0,5 % geschätzt, mit einer deutlichen Bevorzugung des männlichen Geschlechts (~80 % der Fälle), wobei die Diagnosestellung beim weiblichen Geschlecht durch häufigeres Erkennen von milder verlaufenden Abortivformen zugenommen hat [65, 90]. Bei der Spa handelt es sich dabei um eine Erkrankung, die mit destruktiven und produktiv ankylosierenden Veränderungen an der Wirbelsäule und den Iliosakralgelenken einhergeht. Auch periphere Gelenkbeteiligungen treten als Mono-, Oligo- oder als Polyarthritiden auf. Sie können besonders bei früher Manifestation im Vordergrund stehen und erstes Symptom einer Spa sein. Extraartikuläre, extravertebrale Manifestationen können während des gesamten Krankheitsverlaufs auftreten. An erster Stelle steht hier die Augenbeteiligung im Sinne einer Iritis, aber auch kardiovaskuläre, pulmonale, neurologische und renale Manifestationen kommen vor [50, 52, 65].

1.1.2 Ätiologie, Pathogenese und Verlauf

Trotz umfangreicher Forschungen sind Ätiologie und Pathogenese weitgehend ungeklärt. Es wird jedoch ein Zusammenspiel von genetisch determinierter Prädisposition und exogenen Faktoren vermutet [50]. Als eine von sicher mehreren genetischen Prädispositionen wird

heute das Humane Leukozyten Antigen (HLA)-B27 betrachtet, ein Genlocus auf dem kurzen Arm des Chromosom 6, welcher bei 88-96% der Erkrankten nachweisbar ist, aber auch bei 4-8% der gesunden Bevölkerung vorkommt. Letztlich erkranken nur 1-10 % der HLA-B27 Träger an einer Spa [65].

Infektionen werden als exogene Faktoren diskutiert und sollen in diesem Zusammenhang eine krankheitsauslösende Funktion haben, indem es durch partielle Antigenverwandschaft zwischen bakteriellen Antigenen und HLA-B27 zu Kreuzreaktivität gegen HLA kommt [50]. So wird diese Vermutung durch Nachweis von Klebsiellen im Stuhl von Patienten mit Spondylitis ankylosans gestützt. Hier ließen sich im Blut von Spa-Patienten IgA Antikörperspiegel nachweisen, deren Höhe zur Entzündungsaktivität korrelierte und die sowohl gegen HLA B 27 als auch gegen Klebsiellen reagierten [65]. Eine andere Theorie geht davon aus, dass eine Immuntoleranz gegenüber bestimmten Bakterien besteht, da diese ähnliche Oberflächenstrukturen aufweisen könnten, wie HLA B 27. Sichere Beweise hierfür liegen aber nicht vor [65]. Die Theorie der Kreuzreaktivität erklärt aber nicht, warum die Krankheit auch bei HLA-negativen Personen auftritt. Es fanden sich jedoch Hinweise für eine genetische Disposition durch die Häufung weiterer HLA-Antigene des B-Locus bei Spa-Patienten [15, 65]. Die Bestimmung des HLA-B27 Antigens stellt dennoch eine hilfreiche Untersuchung zur diagnostischen Abklärung der Erkrankung dar, besonders im Rahmen der Frühdiagnose.

Das histologische Bild der Spa ist durch eine unspezifische Synovialitis hauptsächlich der Wirbel- und Iliosakralgelenke gekennzeichnet. Die entzündlichen Veränderungen gehen dabei von den Sehnenansätzen, den Enthesen aus. Diese stellen die Verbindung zwischen Sehne und Knochen dar und entsprechen an der Wirbelsäule dem Randleistenanulus [65]. Der Beginn dieses Prozesses liegt überwiegend in den Iliosakralgelenken. Von hier breitet sich die Krankheit in Richtung Wirbelsäule aus [80]. Typisch für diese Erkrankung ist als wesentlicher morphologischer Befund die diffuse Proliferationstendenz und Bildung eines Pannusgewebes, das destruktiv in den Knorpel vordringt und hier zu Verkalkungen und letztlich zu knöchernem Ersatz des Knorpels führt, also eine Knorpelmetaplasie induziert. An der Wirbelsäule zeigt sich dies in Form von destruktiven, reaktiven und reparativen Vorgängen, die schließlich in einer Ankylose enden können. Diese folgt meist erst spät im Krankheitsverlauf und kann auch zur Verknöcherung der Ligamente führen [70].

1.1.3 Diagnose und Therapie

Die Diagnose der Spa wird heute überwiegend auf der Basis der New Yorker Kriterien [71] gestellt, die sowohl radiologische Veränderungen, als auch klinische Symptome einschließen. Charakteristisch sind tiefsitzende vor allem in den frühen Morgenstunden auftretende Rückenschmerzen im Bereich der unteren Lendenwirbelsäule und der Iliosakralgelenke [50, 65]. Weiterhin ist eine Steifigkeit und zunehmende Bewegungseinschränkung zu finden, die sowohl die Wirbelsäule, als auch die Thoraxexkursion betrifft [34]. Die Bewegungseinschränkung, die vor allem in fortgeschrittenen Stadien auftritt, lässt sich mit verschiedenen Bewegungsmassen messen [22, 50, 81].

Wichtige Befunde zur Einschätzung der entzündlichen Aktivität sind das C-reaktive Protein (CRP) und die Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG). Das CRP korreliert dagegen in verschiedenen Studien häufig besser zur Krankheitsaktivität [30, 21], da die BSG auch in aktiven Stadien völlig unauffällig sein kann [21, 65, 90, 100].

Ein entscheidendes diagnostisches Merkmal sind die radiologisch nachgewiesenen Veränderungen an den Sakroiliakalgelenken [13]. Diese werden anhand der New Yorker Kriterien in vier Grade eingeteilt [71]. Während der erste Grad (Grad 0) radiologisch unauffällig ist, zeigt der zweite Grad lediglich eine Arthritis mit mäßigen Sklerosierungen und Gelenkspaltserweiterungen. Die nächsten beiden Stufen weisen dagegen eine zunehmende Sklerosierung, Erosionen und beginnende Ankylosierungserscheinungen auf, die auch als „buntes Bild“ der Sakroilitis bezeichnet werden. Schließlich kommt es in der letzten Stufe (Grad 4) zur vollständigen knöchernen Gelenksankylose [71]. Der Nachweis einer beidseitigen Sacroilitis stellt dabei ein röntgenologisches Frühsymptom dar, dessen Nachweis die Diagnose einer Spa erleichtert [26, 65, 90]. Die Veränderungen der Wirbelsäule zeigen sich in fortgeschritteneren Stadien in Form von Syndesmophytenbildung, Wirbelkörperumbauten, Spondylodiscitiden und osteoporotischen Erscheinungen [65, 90].

Die therapeutischen Optionen erstrecken sich von krankengymnastischen Maßnahmen über medikamentöse Therapie und Strahlenbehandlungen bis zu balneotherapeutischen und operativen Verfahren [65]. Die medikamentöse Therapie beruht vorwiegend auf der Applikation von nichtsteroidalen-Antirheumatika (NSAR) [2, 83], zum einen zur Schmerz- und Entzündungsreduktion [65], aber eventuell auch als Einflussgröße auf das Fortschreiten der Erkrankung im Sinne eines reduzierten Knochenstoffwechsels. In der Literatur wird sowohl von verringerten Ossifikationsprozessen [39], als auch von erniedrigten Resorptionsprozessen berichtet [58, 72, 74].

Der Verlauf der Spa ist gekennzeichnet durch einen chronischen, über Jahre bis Jahrzehnte progredient in Schüben unterschiedlicher Aktivität verlaufenden Prozess, der zwar bisher unheilbar ist, aber in jedem Stadium zur Ruhe kommen kann [90]. Häufig werden milde oder abortive Verlaufsformen beobachtet, die durch lange beschwerdearme Intervalle gekennzeichnet sind. Schwere Verläufe sind eher selten [65]. Nach Gran et al. sollen in den ersten zehn Jahren des Krankheitsverlaufes die größten Einschränkungen der Funktion auftreten. Die Funktionseinschränkungen korrelieren signifikant mit den radiologischen Veränderungen [43].

1.2 Bedeutung der Knochenumbauvorgänge bei der Spondylitis Ankylosans

Periartikuläre und generalisierte Osteoporose sind charakteristische Befunde verschiedener entzündlich rheumatischer Erkrankungen, z.B. der Rheumatoiden Arthritis [115]. Die Osteoporose ist definiert als eine Verminderung der Knochendichte und Störung der Mikroarchitektur des Knochengewebes. Ursächlich ist dabei ein Ungleichgewicht zwischen Knochenbildung und Resorption, das letztlich eine negative Knochenbilanz bedingt. Dementsprechend können pathophysiologisch Formen mit verstärkter Knochenresorption (high turnover) und verminderter Knochenneubildung (low turnover) unterschieden werden [76].

Es gibt zunehmend Beweise, dass es auch bei der Spa im Rahmen des Krankheitsprozesses neben den oben bereits erwähnten Ossifikationsprozessen, zu osteoporotischen Veränderungen an der Wirbelsäule kommt [106]. So zeigten Ralston et al. und Cooper et al., dass das Risiko, eine Wirbelkörperfraktur zu erleiden, bei Spa deutlich erhöht ist [20, 45, 82]). Hanson et al. berichteten bereits 1970 vom Auftreten einer Osteoporose der Wirbelkörper im Zusammenhang mit Spa [46] und Meirelles et al. fanden eine Osteoporoseinzidenz von 50-86 % unter den an Spa Erkrankten [68]. Dabei scheint die Osteoporose vor allem in frühen Stadien der Erkrankung und bei erhöhter Krankheitsaktivität aufzutreten, da hier die Ossifikationsprozesse noch im Hintergrund stehen und der Knochenumsatz erhöht ist [31].

Die Ursache dieser Veränderungen ist bis heute nicht eindeutig geklärt. Es werden Demineralisationsprozesse der Wirbelsäule vermutet, die im Rahmen eines reduzierten Knochenstoffwechsel (low turnover) auftreten sollen [114]. Diese Hypothesen werden

bekräftigt durch Untersuchungen in denen bei normalen Abbauvorgängen erniedrigte Anbauvorgänge auftraten [36, 103, 114], offenbar durch erniedrigte Osteoblastenfunktionen [107]. Andere Arbeitsgruppen fanden im Gegensatz dazu erhöhte Abbauvorgänge, bei normalen Anbauvorgängen, im Sinne eines high turnovers [64, 108, 117].

Auch Entzündungseinflüsse könnten in diesem Zusammenhang eine Rolle spielen [46, 62, 114], indem sie den Knochenstoffwechsel im Sinne eines high turnovers beeinflussen [44, 64, 108] und zu einer erhöhten Osteoklastenaktivität führen [114].

Weiterhin wird diskutiert, dass es mit fortschreitender Krankheit durch abnehmende Mobilität und dadurch bedingte Schmerzen zur Inaktivitätsosteoporose kommt [46, 114]. Schließlich wird als möglicher ätiologischer Faktor die medikamentöse Therapie erwähnt [114]. Bekannt ist der Einfluss von Glukokortikoiden, die die Entwicklung einer Osteoporose begünstigen [94 97]; diese gehören aber bei der Spa nicht zu den Mitteln erster Wahl [50].

1.3 Marker des Knochenmetabolismus

Zur Bestimmung des Knochenstoffwechsels stehen zahlreiche Marker zur Verfügung, die in unterschiedlichem Maße zur Beschreibung der Knochenumbauvorgänge eingesetzt werden. Im Gegensatz zur Knochendichtebestimmung, die eher Summationseffekte bzw. Resultate stattgehabter Vorgänge anzeigt, sind diese Marker in der Lage, Veränderungen rasch anzuzeigen, bzw. aktuelle Degradations- und Formationsaktivitäten frühzeitig widerzuspiegeln [18].

Die Osteoblastenaktivität kann durch sogenannte Knochenanbaumarker im Serum bestimmt werden. Hier ist die knochenspezifische Alkalische Phosphatase zu nennen, bei der es sich um ein Enzym handelt, dessen Gesamtaktivität zu etwa gleichen Teilen aus Leber und Knochen stammt und das einen guten Eindruck über die Knochenneubildung vermittelt. Weiterhin ist das Osteocalcin zu erwähnen, welches als wesentliches nichtkollagenes Knochenprotein während der Matrixmineralisationsphase synthetisiert und überwiegend direkt in die Knochenmatrix integriert wird, so dass nur ein kleiner Teil im Serum messbar ist. Schließlich ist das C-terminale Propeptid des Typ 1 Kollagens zu nennen, welches bei der Endsynthese des Kollagens von Endopeptidasen abgespalten wird [18].

Die Osteoklastenaktivität wird dagegen durch Knochenabbaumarker bestimmt. Die Kalziumausscheidung im Urin ist hier ein wichtiger Befund. Weitere Marker sind die Tartrat-resistente Saure Phosphatase, die schnell auf akute reaktive Prozessabläufe reagiert und das

Hydroxyprolin, welches aus abgebautem Kollagen stammt und nicht wiederverwertet wird. Schließlich sind noch das C-terminale Telopeptid, das N-terminale Telopeptid und die Kollagencrosslinks Pyridinolin und Desoxypyridinolin zu erwähnen [18].

1.4 Kollagencrosslinks als biochemische Marker der Knochen-und Knorpeldegeneration

Unter den oben genannten Markern haben die Kollagencrosslinks (CL) eine zunehmende Bedeutung erlangt. Nachdem 1978 von Fujimoto et al. erstmals die Struktur von Pyridinolin (PYD) beschrieben wurde [37], erfolgte 1982 die Aufklärung der Desoxypyridinolin (DPYD)-Struktur durch Barber et al. [6].

1.4.1 Synthese und Struktur der Kollagencrosslinks

Bei den Crosslinks handelt es sich um Brücken- bzw. Klammermoleküle [48], welche die Quervernetzung von Kollagenfibrillen bewerkstelligen [93]. Nachdem intrazellulär gebildetes Prokollagen durch Exozytose in den Extrazellularraum gelangt ist, erfolgt hier die enzymatische Umwandlung zum Tropokollagen, das nicht mehr wasserlöslich ist und mit anderen Tropokollagenmolekülen zu Kollagenfibrillen aggregiert. Dabei kommt es durch Crosslinks im Bereich der nicht spiralisierten Enden, den Telopeptiden, zur Quervernetzung mit den Nachbarmolekülen. Bei diesem Vorgang wird zuerst der Lysin (L)- bzw. Hydroxylysinrest (H) durch die Lysyloxidase oxidiert. Danach erfolgt durch das gleiche Enzym die Verbindung mit einem zweiten Hydroxylysinrest, so dass ein bifunktionales Crosslinkmolekül entsteht. Dieses wird im letzten Schritt mit einem dritten Hydroxylysinrest verbunden. Somit ergibt sich bei der Kombination H-H-H Pyridinolin und bei der Kombination H-H-L Desoxypyridinolin [33, 85, 95]. Ob PYD oder DPYD entsteht, hängt somit von der Hydroxylierung der Lysinreste ab.

1.4.2 Vorkommen und Gewebsverteilung der Kollagencrosslinks

Crosslinks kommen ausschließlich in reifem Kollagen vor und nicht in neusynthetisierten Vorläuferprodukten. Sie werden während der enzymatischen Kollagendegradation freigesetzt

und renal weitgehend unverändert ausgeschieden. Dies geschieht nur bis zu einem gewissen Grad unabhängig von der renalen Funktion [67], da sich bei Dialysepatienten ein Anstieg der Crosslinks zeigen ließ [73]. Beim Gesunden ist ihr Auftreten immer auf Kollagenabbauvorgänge zurückzuführen [93]. Im Anschluss an diese Degradationsprozesse liegen 40 % der Crosslinks frei im Serum vor, die restlichen 60 % sind an Proteine gebunden [55].

Der Vorteil der Pyridinium-Crosslinks als Degenerationsmarker des Kollagens liegt darin, dass sie im Gegensatz zum Hydroxyprolin eine hohe Gewebsspezifität besitzen [93].

PYD ist in nennenswerten Konzentrationen vor allem im Typ II Kollagen des Knorpels, aber in relativ geringerem Umfang auch in Knochen und Bänderkollagenen vorhanden [92, 95]. DPYD findet sich dagegen fast ausschließlich in mineralisiertem Gewebe wie Knochen und Dentin [32, 92, 95]. Dabei zeigt sich für PYD/DPYD im Knorpel ein Verhältnis von 50:1 [104] und im Knochen von 3:1 [104].

1.4.3 Messungen der Kollagencrosslinks in Urin und Serum

Die quantitative Bestimmung der Pyridinium Crosslinks erfolgt heute entweder mit dem chromatographischen Verfahren der High Performance Liquid Chromatography (HPLC) oder mit Immunoassays. Bei Verwendung von Urin wird in der Regel Morgenurin untersucht, bei Serum morgendliche Blutabnahmen. Die Probenentnahme erfolgt morgens, da der CL-Spiegels im Tagesverlauf erheblichen Schwankungen unterliegt [91].

Die von Black et al. 1988 [11] erstmals zur Crosslinksbestimmung beschriebene Methode der HPLC nutzt zur Detektion die natürliche Fluoreszenz der Pyridiniumderivate und erfolgt nach vorheriger Aufbereitung des Urins durch Hydrolyse, wodurch die proteingebundenen Crosslinks freigesetzt werden und durch anschließende Partitionschromatographie von der Biomatrix abgetrennt werden. Diese Methode besitzt eine hohe Zuverlässigkeit und Sensitivität (1 pmol) [11], ist aber sehr kosten- und zeitaufwändig [93]. In den folgenden Jahren erschienen weitere Arbeiten, die sich mit der Crosslinksbestimmung durch HPLC und der Möglichkeit der Standardisierung dieses Verfahrens befassten [57]. Dabei wurde versucht, durch Einführung von internen Standards die bei der Probenvorbereitung auftretenden Verluste zu minimieren, systematische Fehler auszuschliessen und dabei die Präzision zu erhöhen [10, 19], da sich hier doch deutliche Abweichungen zwischen einzelnen Labors zeigten [23].

Robins et al. beschrieben 1982 einen Immunoassay [84]. Dieses auf der Elisa-Technik beruhende Verfahren bestimmt mit Hilfe von Antikörpern nur die proteingebundenen Crosslinks bzw. Aminosäuresequenzen, wobei teilweise eine befriedigende Spezifität erreicht wurde [86]. In folgenden Studien wurde diese Methode aber als nicht ausgereift betrachtet, da die Antikörper-Spezifität noch zu gering sei [16] bzw. die Sensitivität nicht ausreiche [35]. Andere Untersuchungen kommen zu gegenteiligen Resultaten [38].

1.4.4 Kollagencrosslinks beim Gesunden - Einflussfaktoren auf die Ausscheidung

Beim Erwachsenen zeigt sich für die Pyridinium Crosslinks ein relativ enger Normbereich, obwohl es in der Probenvorbereitung und bei der Analyse zwischen einzelnen Laboren Unterschiede gibt. So liegen bei einer retrospektiven Literatursauswertung von Seibel et al. die Werte für PYD zwischen 15 und 35 pmol und für DPYD zwischen 4 und 9 pmol. Der Quotient PYD/DPYD liegt dabei konstant im Bereich 3-4 [95].

Die Ausscheidung der peptidgebundenen Crosslinks unterliegt starken tageszeitlichen Schwankungen mit hohen Werten in den frühen Morgenstunden, einem Abfall im Laufe des Tages und einem Tief am späten Nachmittag. Die präzise Amplitude dieser Tagesschwankungen ist noch nicht bekannt. Dies ist bei der Verwendung von Spontanurin zu beachten [91]. Für freie Crosslinks scheinen sich diese Befunde allerdings nicht zu bestätigen [3]. Die Ursache könnte darin liegen, dass die Osteoklasten primär crosslinkvernetzte Peptide freisetzen, die erst im weiteren Verlauf aufgespalten werden. Somit haben die freien Crosslinks einen relativ konstanten Ausscheidungsrythmus und spiegeln die aktuelle Osteoklastenaktivität schlechter wider als die peptidgebundenen [88].

Die Tag zu Tag Variation der Crosslinkausscheidung wurde in Untersuchungen von McLaren et al. als gering bezeichnet [67], aktuellere Studien sehen hier aber doch erhebliche Unterschiede und empfehlen mehrere Probenentnahmen, um den Crosslinkturnover einer Person besser zu charakterisieren [40].

Sowohl Alter, Ernährung, Geschlecht als auch körperliche Aktivität scheinen keinen Einfluss auf die Crosslinkelimination in Spontan-oder 24-Stunden-Urin und die circadiane Rhythmik zu haben [8, 87, 91, 110].

Körperliche Inaktivität durch längerdauernde Bettruhe erhöht dagegen die Crosslinks im Sinne einer Inaktivitätsatrophie [91]. Bei Kindern und Heranwachsenden finden sich in

Abhängigkeit von der Wachstumsphase für beide CL-Komponenten erhöhte Ausscheidungswerte als Zeichen des gesteigerten Knochenumsatzes [8, 109]. Auch bei Frauen finden sich in der Phase der Menopause auf Grund des beschleunigten Knochenumsatzes zwei bis dreifach höhere Urinkonzentrationen, die sich unter hormoneller Therapie aber wieder normalisieren [111]. Dies ist ein Zeichen für die vielfältigen hormonellen Einflüsse auf den Knochenmetabolismus. So wird für die Östrogene eine knochenabbau-hemmende Wirkung beschrieben [112], auch Therapien mit Calcitonin, Vitamin D [49] und Kalzium [88] führen zu einem Abfall der Crosslinkspiegel. Dagegen verstärken erhöhte Parathormonspiegel im Rahmen eines Hyperparathyreodismus, bzw. erhöhte Thyroxinspiegel die Ausscheidung [95].

In diesem Zusammenhang ist die Wirkung der auch medikamentös eingesetzten Glukokortikoide zu nennen, denen eine Zunahme der Knochenresorption im Sinne einer Osteoporoseinduktion angelastet wird [97]. Der Einfluss auf die Crosslinkexkretion wird in verschiedenen Arbeiten differenziert betrachtet. So sehen Koyama et al. bei gesunden Ratten einen Anstieg der Crosslinkexkretion unter Glukokortikoiden [97], während andere Studien im Rahmen der Therapie rheumatischer Erkrankungen bei bereits erhöhten Crosslink-Spiegeln sowohl Anstiege, Abfälle, als auch keine Veränderungen beobachteten [57, 60, 94]. Weitere bei der Therapie von rheumatischen Erkrankungen eingesetzte Medikamente sind die bereits oben erwähnten NSAR, die Knochenresorptionsprozesse verringern [58, 74]. Dies zeigt sich darin, dass die Freisetzung der Crosslinks durch sie reduziert wird [74, 113].

1.4.5 Bedeutung der Kollagencrosslinkquantifizierung bei anderen Erkrankungen

Knochenumbauvorgänge treten bei vielen primären und sekundären Knochenerkrankungen auf und verändern die Ausscheidung der Pyridinium Crosslinks. So berichteten Walne et al. von erhöhten Werten bei Knochenmetastasen [112], während Garnero et al. die Bedeutung der Crosslinks für die Verlaufs- und Therapiekontrolle der postmenopausalen Osteoporose der Frau betonen [38]. Weitere Untersuchungen fanden deutlich erhöhte Crosslinkswerte bei Osteoporose [9, 66]. Dabei spiegelt besonders DPYD in freier und gebundener Form als knochenspezifischer Marker den verstärkten Knochenabbau wider [24, 63].

Auf dem Gebiet der rheumatischen Erkrankungen ist vor allem die Rheumatoide Arthritis Gegenstand zahlreicher Studien, wobei neben dem Knochen- auch der Knorpelstoffwechsel von Interesse ist. Hier zeigten sich neben deutlich erhöhten Werten auch gute Korrelationen

zur Krankheitsaktivität, die sich mit Hilfe der Entzündungsparameter darstellen lässt. [5, 12, 47, 94, 99, 105, 116]. Insbesondere für PYD als Vernetzungsmolekül des Knorpelkollagens scheint dies zuzutreffen [12, 56, 99].

1.4.6 Kollagencrosslinks bei Spondylitis ankylosans

Auch bei der Spa haben die Crosslinkmessungen in den letzten Jahren Interesse hervorgerufen und wurden in verschiedenen Studien, die den Knochenstoffwechsel bei Spa untersuchten, gemessen. Dabei zeigten sich im Vergleich zu Normalkollektiven sowohl signifikant erhöhte [109, 117], als auch unveränderte Werte [14, 69, 108]. Weiterhin fand sich in mehreren Studien ein konstanter Zusammenhang zwischen Crosslinkausscheidung und Krankheitsaktivität [31, 61, 64, 69, 75, 108, 117].

1.5 Zielstellung

- Das Ziel dieser Studie war es, die Kollagenabbauprozesse bei Spa näher zu charakterisieren. Hierzu wurden in einem definierten Kollektiv an Spa-Patienten die Kollagenabbaumarker PYD und DPYD sowohl in gebundener als auch in freier Form bestimmt. Als Untersuchungsmedium wurde Urin verwendet.
- Die ermittelten Werte sollten dann mit verschiedenen Krankheitsparametern korreliert werden. Dabei galt das Interesse zum einen der entzündlichen Krankheitsaktivität, als eventuellem pathogenetischen Faktor für die Ausbildung der Osteoporose, ferner der Krankheitsdauer und dem bei fortschreitender Erkrankung möglicherweise differenten Metabolismus. Auch der Einfluss der medikamentösen Therapie, im Sinne einer Beeinflussung von Schmerz, Entzündung und Bewegungsfunktion und das radiologische Stadium, bzw. die Bewegungsfunktion an sich sollten zur Crosslinkfreisetzung in Bezug gebracht werden.
- Schließlich sollten die Probanden noch in Untergruppen hoher und niedriger Krankheitsaktivität, bzw. frühes und spätes Krankheitsstadium unterteilt und diesbezüglich nach weiteren Zusammenhängen zur CL-Ausscheidung kontrolliert werden.
- Zusätzlich interessierte uns, ob die CL-Ausscheidung bei Spa im Vergleich zu anderen Skeletterkrankungen, aber auch zu Normalpersonen krankheitsspezifische Tendenzen erkennen lässt.

2. PATIENTEN UND METHODEN

2.1 Patienten

2.1.1 Datenerfassung und epidemiologische Angaben

Die Untersuchung umfaßte 91 Patienten mit nach New Yorker Kriterien gesicherter Spa, die sich im Zeitraum Oktober 93 bis Mai 98 im Klinikum für Innere Medizin Jena in Behandlung befanden. Dabei handelte es sich sowohl um von Fachrheumatologen gesicherte Erstdiagnosen, als auch um Verlaufskontrollen bei bereits bekannter Spa im Rahmen stationärer Aufenthalte oder Wiedereinbestellung in die rheumatologische Ambulanz.

Aus den Krankenakten der Archive der Klinik für Innere Medizin standen zeitgleich gewonnene Daten zur Verfügung, die eine weitere Charakterisierung des Patientenguts ermöglichten.

Eine Übersicht über die demographischen, klinischen und radiologischen Variablen der 91 Patienten gibt Tabelle 2.1. Das Patientengut teilt sich auf in 26 weibliche und 65 männliche Patienten, im Alter von 18-69 Jahren (\bar{x} 39,6). Hier zeigt sich eine Dominanz der Männer gegenüber Frauen in einer Relation von etwa 2,5:1. Das HLA-B-27 konnte bei 75 Patienten (83 %) nachgewiesen werden. Eine Sacroilitis war in allen Fällen in unterschiedlichen Schweregraden vorhanden. Eine Wirbelsäulenbeteiligung war zum Zeitpunkt der Untersuchung bei 48 % radiologisch belegbar, und 25 % wiesen periphere Gelenkveränderungen auf. 2/3 der Patienten waren schon länger als 10 Jahre erkrankt.

Als Krankheitsdauer wurde die Zeit von der Erstmanifestation bis zur Probengewinnung ermittelt. Sie reicht von 1-39 Jahren (\bar{x} 12 Jahre). Wir gingen bei einer Krankheitsdauer von < 5 Jahren von einer frühen Phase, bzw. bei \geq 5 Jahren von einer späten Phase der Erkrankung aus (Tab. 2.2).

Die Entzündungsaktivität wurde mit Hilfe der Entzündungsparameter Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) und C-reaktives Protein (CRP) ermittelt und in Aktivitätsgruppen unterteilt (Tab. 2.2). Hier zeigte sich für CRP ein Bereich von <5-134,8 mg/l (\bar{x} 18,5 mg/l) (dabei bedeutet $x < 5$ „nicht erhöht“) und für BSG von 1-80 mm/h (\bar{x} 20,4 mm/h).

Bezüglich der medikamentösen Therapie mit NSAR wurden zwei Gruppen gebildet: Eine Gruppe die regelmäßig NSAR einnahm und eine, die keine NSAR zu sich nahm (Tab. 2.2).

Die Bewegungsmaße wurden durch die aufnehmenden Ärzte erfasst. Wir verwendeten in unserer Studie den Finger-Boden-Abstand und das Schober'sche Maß für weitere Differenzierungen (Tab. 2.2).

Die röntgenologische Untersuchung und Beurteilung erfolgte durch Fachradiologen des Zentrums für Diagnostische und Interventionelle Radiologie. Dabei wurden in den aktuellsten Aufnahmen sowohl die Sakroiliakalgelenke in den Stadien I-IV, als auch Wirbelsäulenveränderungen in Form von Syndesmophytenbildung und Veränderungen peripherer Gelenke erfasst. Auch diese Parameter wurden jeweils in zwei Gruppen unterteilt (Tab. 2.2).

Tab. 2.1: *Epidemiologische Daten des untersuchten Patientenkollektives*

	Mittelwert (±Standardabweichung)	Median	Min.-Max.
N	91		
Alter (Jahre)	39,6 (±12,4)	38	18-69
Geschlecht (männl./weibl.)	(65/26)		
Krankheitsdauer (Jahre)	12,3 (±9,4)	10	1-39
CRP (mg/l)	18,5 (±25,4)	9,4	<5-134
BSG (mm/h)	20,4 (±17,7)	15	1-80
Finger Boden Abstand (cm)	14,4 (±16,6)	10	0-80
Schober (cm)	3,9 (±1,8)	4	1-10
Syndesmophyten	44 (48 %)		
Sacroilitis (0-4)	2,83 (±0,9)	3	0-4
Periph.Gelenkbeteiligung	23 (25 %)		
HLA B 27	In 75 Fällen nachweisbar (83 %)		

Tab. 2.2: *Prozentuale und absolute Verteilungen in den einzelnen Untergruppen der Patientenmerkmale*

		Absolute Verteilung	Prozentuale Verteilung
Krankheitsdauer	< 5 Jahre	30	33 %
	>= 5 Jahre	61	67 %
BSG	< 30 mm/h	71	78 %
	>= 30 mm/h	20	22 %
CRP	< 10 mg/l	49	54 %
	>= 10 mg/l	42	46 %
Finger-Boden-Abstand	< 10 cm	44	48 %
	>= 10 cm	47	52 %
Schober'sches Maß	< 5 cm	51	56 %
	>= 5 cm	40	44 %
NSAR-Einnahme	Ja	80	88 %
	Nein	11	12 %
Sacroilitisgrad	Grad 1-2	36	40 %
	Grad 3-4	55	60 %
Syndesmophytenbildung	Ja	49	54 %
	Nein	42	46 %
Periphere Gelenkbeteiligung	Ja	25	28 %
	Nein	66	72 %

2.1.2 Untersuchungsmaterial

Von allen Patienten wurde Morgenurin gewonnen. Das Untersuchungsmaterial wurde nach Abnahme bis zur Probenvorbereitung bei -20°C gelagert. Es wurden sowohl die gebunden (PYD und DPYD), als auch die freien (PYD fr und DPYD fr) Kollagencrosslinks bestimmt.

2.1.3 Normalkontrollen und Patientenkollektive

Für Vergleichsuntersuchungen verwendeten wir bereits gemessene Crosslinkwerte von anderen Patientenkollektiven (Rheumatoide Arthritis-RA bzw. Osteoporose-OP) und Normalkontrollen-NK, die unabhängig von unserer Studie erhoben worden waren und in einer Datenbank des Forschungslabors Rheumatologie und Osteologie zur Verfügung standen.

2.2 Methoden

2.2.1 Bestimmung von Pyridinolin und Desoxypyridinolin

Die Bestimmung von Pyridinolin und Desoxypyridinolin im Urin erfolgte mittels HPLC (Hochdruckflüssigkeitschromatographie) nach entsprechender manueller Probenvorbereitung. Je Urinprobe wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt. Zur Untersuchung verwendeten wir Morgenurin.

Probenvorbereitung:

Verwendete Chemikalien: mobile Phase für Partitionschromatographie: 4 Teile 1-Butanol, 1 Teil Essigsäure 100 %, 1 Teil Wasser dest.; CF-1 Slurry (Cellulose-Aufschwemmung): mobile Phase und CF-1 Zellulose;

Loadingbuffer: 100 ml Wasser (für HPLC) und 130 µl Heptafluorbuttersäure (HFBA).

Hydrolyse: Die Urinproben (250 µl) wurden zunächst mittels saurer Hydrolyse vorbehandelt, um Peptidbindungen zu spalten. Dazu erfolgte die Zugabe gleicher Volumina von 250 µl 32%iger HCL. Über 17 Stunden wurden die Proben bei 110°C unter Luftausschluss inkubiert.

Partitionschromatographie: Es folgte eine Säulenchromatographie mit CF1-Zellulose als stationärer Phase, um die Crosslinks mittels Adsorption zu separieren (Bjellerup, 1997). Die Partitionschromatographie erfolgte nach einer modifizierten Methode nach James (James et al. 1993). Vorbereitend wurden Säulen (Gilson-Spitzen für 5 ml Pipette) mit Glaswolle ausgestopft. In einem Becherglas wurde CF-1 Slurry (mobile Phase + 5 % CF-1 Zellulose) mit einem Magnetrührer aufgeschwemmt und auf jede Säule mittels einer 5 ml Pipette gegeben (5 ml bei Urin). Zu den hydrolysierten Urinproben erfolgte nach Abkühlung die Zugabe von jeweils 500 µl CF-1 Slurry, 500 µl Essigsäure 100 %, 2 ml 1-Butanol und 100 µl interner Standard Isodesmosin (ICN Biochemicals, Eschwege). Nach Zugabe der Reagenzien

wurde das Gemisch mit der Pasteurpipette sofort quantitativ auf die CF-1 Säule gegeben, welche danach dreimal mit mobiler Phase ausgewaschen und mittels Druckluft trocken geblasen wurde. Auf die trockenen Säulen wurden je 5 ml Wasser dest. gegeben und wiederum mittels Druckluft trockengeblasen. Das in Falconröhrchen aufgefangene Eluat wurde zentrifugiert (10 min bei 2000 U/min). Danach wurde die wässrige Phase quantitativ in Rollrandgläser überführt und tiefgefroren. Anschließend erfolgte die Gefriertrocknung (Lyovac GT 2, AMSCO Finn-Aqua GmbH, Hürth). Die trockenen Lyophilisate wurden mit 250 µl Loadingbuffer versetzt und 30-60 min auf dem Taumel-Rollenmischer (RM 5, Assistent) gemischt. Danach wurden die Eluate in die entsprechenden Autosampler-Vials (Chromacol, DE) quantitativ pipettiert.

HPLC:

Das Injektionsvolumen an Eluat für die HPLC betrug 50 µl. PYD und DPYD wurden an einer RP-18 Säule (Merck Co., Darmstadt, Germany) chromatographisch aufgetrennt und quantitativ mittels Fluoreszenzdetektors bestimmt. Angewendet wurde eine modifizierte HPLC-Methode [47] nach James und Collwell.

Zur Reduktion des systematischen (prä- analytischen und analytischen) Fehlers wurde zu jeder Probe bereits in der Probenvorbereitung ein interner Standard hinzugegeben.

Die PYD und DPYD Konzentration im Urin wird angegeben als Verhältnis zwischen PYD bzw. DPYD und der Kreatininkonzentration im Urin (bestimmt am Tag der Urinabnahme). Das Ergebnis wurde in nmol Crosslink/mmol Creatinin dargestellt.

2.2.2 Bestimmung der Entzündungsparameter

Die Bestimmung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit erfolgte mit der Methode nach Westerngreen, vom C-reaktiven Protein (CRP) mit der Methode der Immunnephelometrie.

Die Bestimmung der Entzündungsparameter erfolgte dabei zeitgleich zur Probengewinnung.

2.3 Statistik

Die Berechnungen erfolgten computergestützt mit dem Programmen Excel 7.0 und SPSS. Da die Variablen keiner Normalverteilung folgten, errechneten wir bei Korrelationsuntersuchungen den SPEARMANSCHEN Rangkorrelationskoeffizient (SRKK) bzw. verwendeten nicht-parametrische Testverfahren (Mann-Whitney-U Test) zur Prüfung auf signifikante Mittelwertunterschiede.

Die Boxplots wurden ebenfalls mit SPSS erstellt. Dabei umfassten die Kästen den Wertebereich vom 25.-75. Perzentil für die jeweilige Stichprobe. Die fettgedruckte Linie innerhalb eines Kastens markierte deren Median.

3. ERGEBNISSE

3.1 Korrelationsuntersuchungen zwischen den Urinspiegeln der Kollagencrosslinks und verschiedenen klinischen Parametern - Mittelwertevergleich zwischen einzelnen Untergruppen in Bezug auf Pyridinium Crosslinks im Urin

Im ersten Teil der Untersuchung prüften wir, ob sich zwischen den zeitnah erhobenen klinischen und serologischen Daten und den durch uns ermittelten Kollagencrosslinkwerten (CL) Korrelationen zeigen ließen. Zusätzlich teilten wir die Daten noch in Untergruppen ein, die dann in Bezug auf signifikante Mittelwertunterschiede hinsichtlich der Crosslinks überprüft wurden.

3.1.1 Kollagencrosslinks und C-reaktives Protein (CRP)

Zwischen den Crosslinkspiegeln im Urin und dem Entzündungsparameter CRP zeigten sich sowohl für PYD (SRKK: $r=0,360$; $p=0,001$; vgl. Abb. 3.1) als auch für den Quotienten PYD/DPYD (SRKK: $r=0,262$; $p=0,016$; vgl. Abb. 3.2) positive Korrelationen, die restlichen Werte zeigten dagegen keine signifikanten Beziehungen (Tab. 3.1).

Tab. 3.1: Korrelationen zwischen Kollagencrosslinkspiegeln im Urin und CRP im Serum

	CRP	
	r	p
PYD (nmol/mmol CREA)	0,360	0,001
DPYD (nmol/mmol CREA)	0,139	0,207
PYD/DPYD	0,262	0,016
PYD fr (nmol/mmol CREA)	0,187	0,092
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	0,129	0,252
PYD/DPYD fr	0,018	0,870

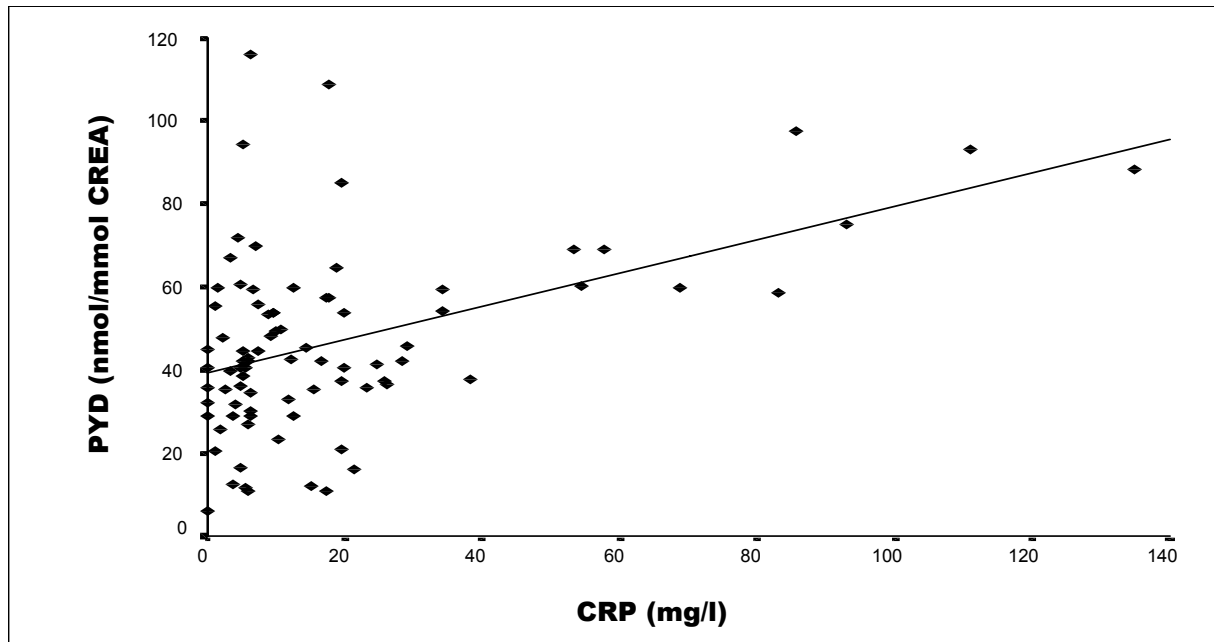


Abb. 3.1.: Streudiagramm der Crosslinkwerte PYD in Abhängigkeit vom Entzündungsparameter CRP. Dabei zeigte sich eine signifikante Korrelation der beiden Parameter (SRKK: $r=0,360$; $p=0,001$).

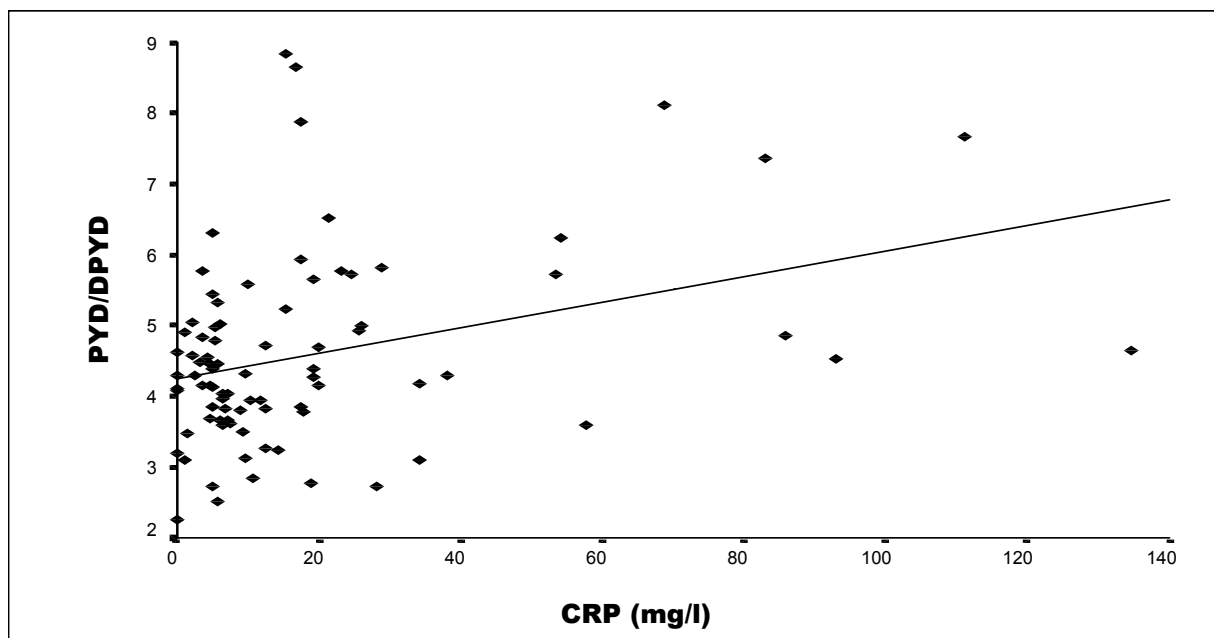


Abb. 3.2: Streudiagramm des Quotienten PYD/DPYD in Abhängigkeit vom Entzündungsparameter CRP. Dabei zeigt sich eine signifikante Korrelation der beiden Parameter (SRKK: $r=0,262$; $p=0,262$).

Im weiteren wurde der Entzündungsparameter CRP in eine Gruppe niedriger Aktivität (<10 mg/l) und in eine Gruppe hoher Aktivität (≥10 mg/l) unterteilt. Hier zeigte sich für PYD in der Gruppe hoher Aktivität ein signifikant erhöhter Mittelwert (Mann-Whitney U-Test: $p=0,042$; vgl. Abb. 3.3). Auch DPYD, die nicht proteingebundenen freien Kollagencrosslinks (CL) und die Quotienten PYD/DPYD, bzw. PYD/DPYD fr waren bei hoher Aktivität tendenziell erhöht, der Unterschied zu den Gruppen mit geringer Aktivität war aber nicht signifikant (Tab. 3.2).

Tab. 3.2: *Mittelwertvergleich der Kollagencrosslinkspiegel im Urin in Abhängigkeit von der systemischen Entzündungsaktivität gemessen durch das C-reaktive-Protein*

	CRP (mg/l)	Mittelwert±SD	N	p
PYD (nmol/mmol CREA)	CRP < 10 mg/l CRP ≥ 10 mg/l	42,9± 20,8 50,9± 23,1	45 39	0,042
DPYD (nmol/mmol CREA)	CRP < 10 mg/l CRP ≥ 10 mg/l	10,8± 5,7 11,3± 6,3	45 39	0,704
PYD/DPYD	CRP < 10 mg/l CRP ≥ 10 mg/l	4,2± 0,8 5,0± 1,6	45 39	0,067
PYD fr (nmol/mmol CREA)	CRP < 10 mg/l CRP ≥ 10 mg/l	19,3± 0,8 19,8± 8,4	45 36	0,482
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	CRP < 10 mg/l CRP ≥ 10 mg/l	7,1± 5,1 7,8± 6,0	45 36	0,697
PYD/DPYD fr	CRP < 10 mg/l CRP ≥ 10 mg/l	3,2± 1,1 3,1± 1,2	45 36	0,977

SD: *Standardabweichung*

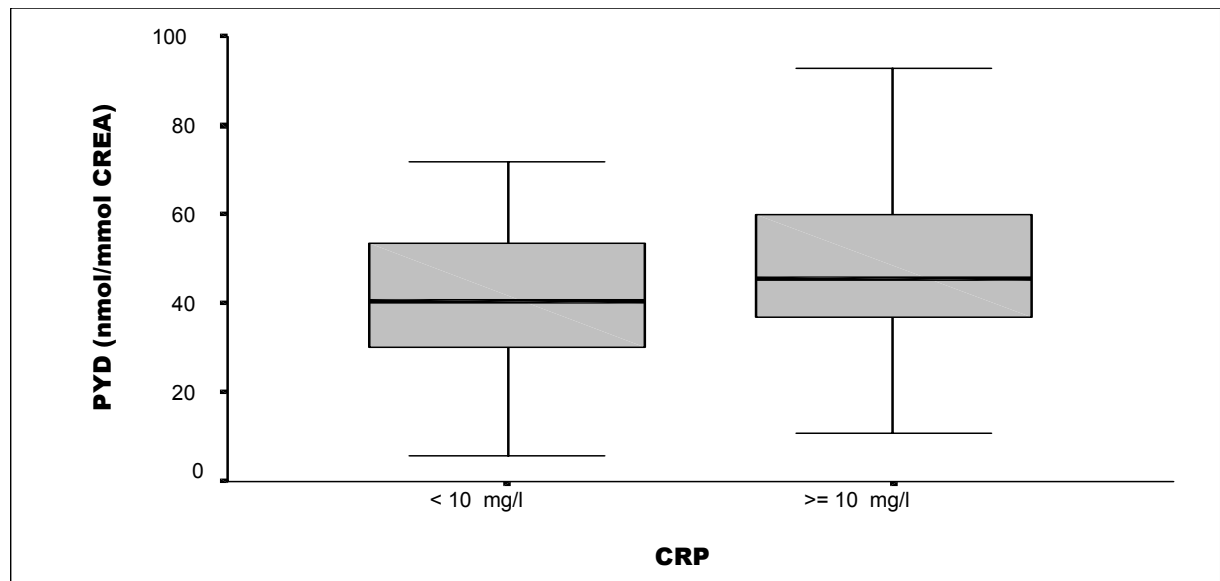


Abb. 3.3: Häufigkeitsverteilung der Urinspiegel von PYD bei Patienten mit unterschiedlicher Entzündungsaktivität (CRP) im Boxplot. Die Werte der Patienten mit niedriger Aktivität (<10 mg/l) lagen signifikant unter denen der Patienten mit hoher Aktivität (≥10 mg/l) (Mann-Whitney U-Test: $p=0,042$).

3.1.2 Kollagencrosslinks und Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG)

Zwischen den Kollagencrosslinks und dem Entzündungsmarker BSG zeigte sich für PYD (SRKK: $r=0,379$; $p=0,000$; vgl. Abb. 3.4) und für den Quotienten PYD/DPYD (SRKK: $r=0,325$; $p=0,002$; vgl. Abb. 3.5) eine positive Korrelation, die restlichen Werte zeigten keine signifikanten Korrelationen (Tab. 3.3).

Tab. 3.3: Korrelationen zwischen Kollagencrosslinkspiegeln im Urin und BSG im Serum

	BSG	
	r	p
PYD (nmol/mmol CREA)	0,379	0,000
DPYD (nmol/mmol CREA)	0,121	0,263
PYD/DPYD	0,325	0,002
PYD fr (nmol/mmol CREA)	0,198	0,073
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	0,090	0,421
PYD/DPYD fr	0,172	0,122

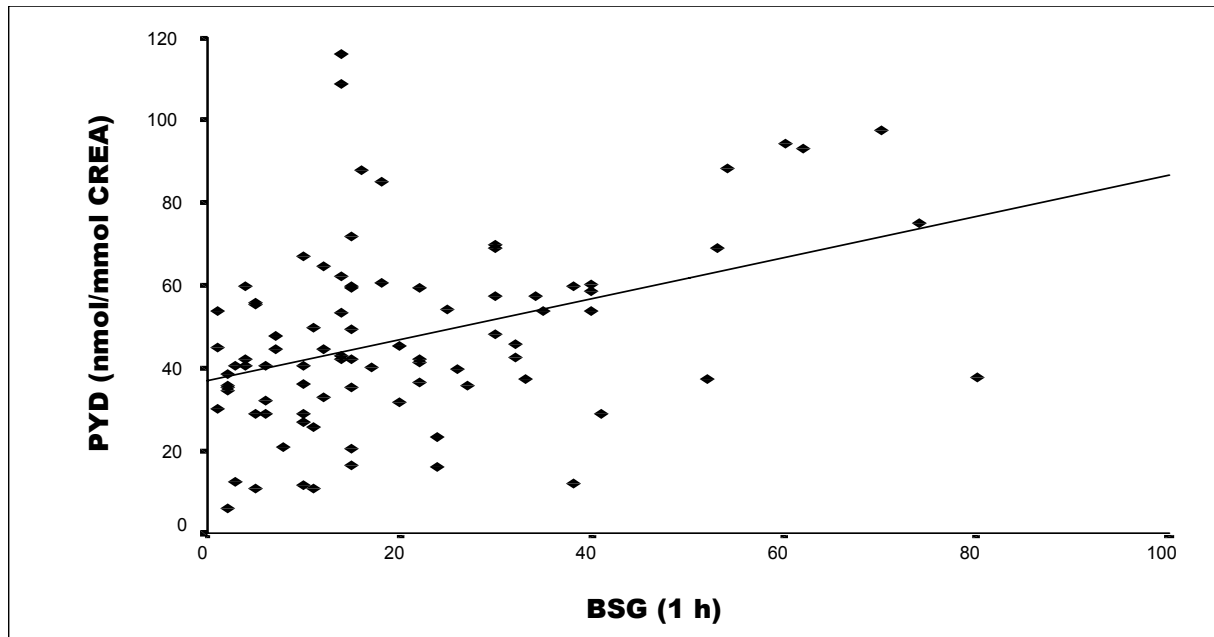


Abb. 3.4: Streudiagramm der Crosslinkwerte PYD im Urin in Abhängigkeit vom Entzündungsparameter BSG. Dabei zeigte sich eine signifikante Korrelation der beiden Parameter (SRKK: $r=0,379$; $p=0,000$).

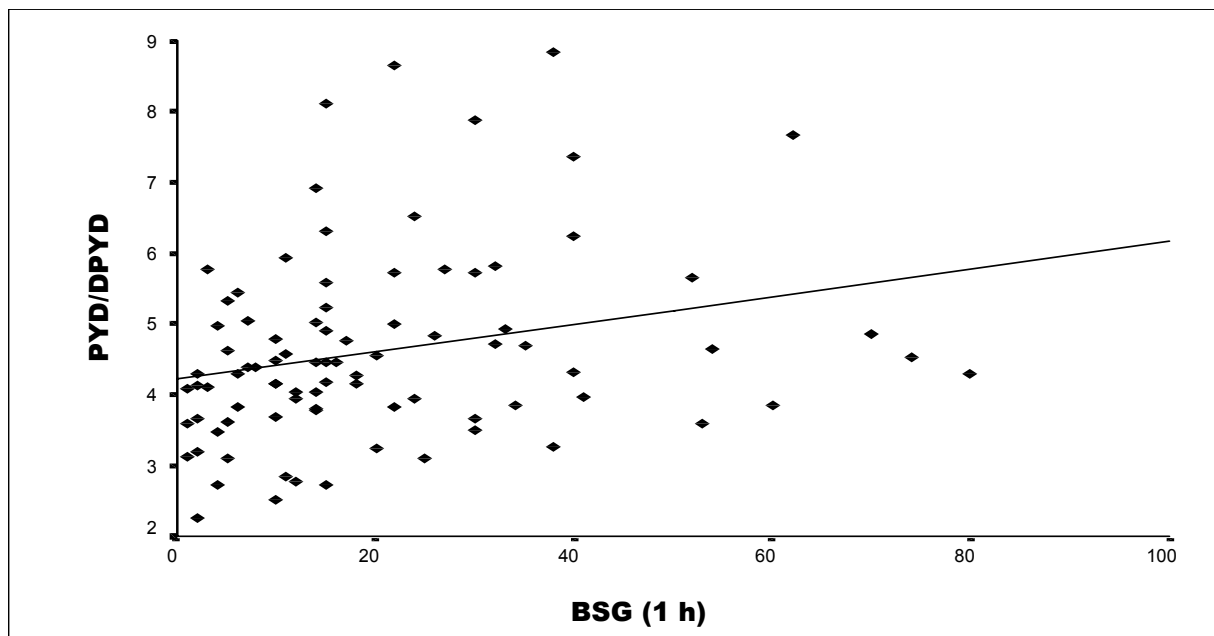


Abb. 3.5: Streudiagramm des Quotienten PYD/DPYD im Urin in Abhängigkeit vom Entzündungsparameter BSG. Dabei zeigte sich eine signifikante Korrelation der beiden Parameter (SRKK: $r=0,325$; $p=0,002$).

Die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG) wurde in eine Gruppe niedriger (<30 mm/h) und in eine hoher Krankheitsaktivität (≥ 30 mm/h) unterteilt. Dabei unterschieden sich die Untergruppen für PYD signifikant, mit höheren Werten bei hoher Aktivität (Mann-Whitney U-Test: $p=0,009$; vgl. Abb. 3.6). Auch die weiteren CL- Parameter, bis auf DPYD fr zeigten diese Tendenz, dies war aber nicht signifikant (Tab. 3.4).

Tab. 3.4: Mittelwertvergleich der Kollagencrosslinkspiegel im Urin und der systemischen Entzündungsaktivität gemessen durch die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit

	BSG (mm/h)	Mittelwert \pm SD	N	p
PYD (nmol/mmol CREA)	BSG ≥ 30 mm/h BSG ≥ 30 mm/h	44,1 \pm 21,1 58,0 \pm 23,7	68 19	0,009
DPYD (nmol/mmol CREA)	BSG ≥ 30 mm/h BSG ≥ 30 mm/h	10,7 \pm 6,0 12,4 \pm 5,9	68 19	0,124
PYD/DPYD	BSG ≥ 30 mm/h BSG ≥ 30 mm/h	4,5 \pm 1,3 5,1 \pm 1,5	68 19	0,198
PYD fr (nmol/mmol CREA)	BSG ≥ 30 mm/h BSG ≥ 30 mm/h	19,6 \pm 9,0 19,7 \pm 7,1	65 17	0,526
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	BSG ≥ 30 mm/h BSG ≥ 30 mm/h	7,5 \pm 5,9 6,7 \pm 3,5	65 17	0,859
PYD/DPYD fr	BSG ≥ 30 mm/h BSG ≥ 30 mm/h	3,2 \pm 1,8 3,5 \pm 1,3	65 17	0,407

SD: Standardabweichung

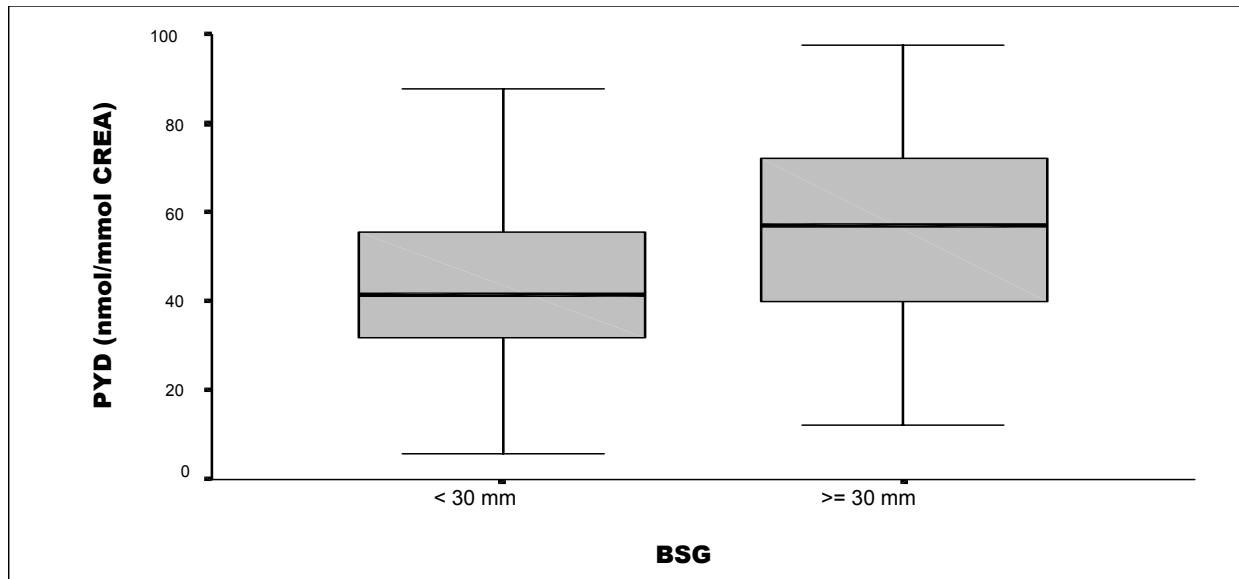


Abb. 3.6: Häufigkeitsverteilung der Urinspiegel von PYD bei Patienten mit unterschiedlicher Entzündungsaktivität (BSG) im Boxplot. Die Werte der Patienten mit niedriger Aktivität (<30 mm/h) lagen signifikant unter denen der Patienten mit hoher Aktivität (>=30 mm/h) (Mann-Whitney U-Test: $p=0,009$).

3.1.3 Kollagencrosslinks und Krankheitsdauer

Zwischen der Krankheitsdauer (in Jahren) und den gemessenen Spiegeln der Kollagencrosslinks zeigten sich keine signifikanten Korrelationen (Tab. 3.5).

Tab. 3.5: Korrelationen zwischen Kollagencrosslinkspiegeln im Urin und der Krankheitsdauer der Spa

	Krankheitsdauer	
	r	p
PYD (nmol/mmol CREA)	0,057	0,590
DPYD (nmol/mmol CREA)	-0,069	0,519
PYD/DPYD	0,147	0,166
PYD fr (nmol/mmol CREA)	-0,110	0,313
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	-0,003	0,981
PYD/DPYD fr	-0,065	0,554

Die Patienten wurden dann anhand der Krankheitsdauer in ein frühes (<5 Jahre) - und ein spätes (≥5 Jahre) Krankheitsstadium unterteilt, es zeigten sich hier keine signifikanten Mittelwertunterschiede. Bei langer Krankheitsdauer sind die Werte von PYD und DPYD tendenziell niedriger (Tab. 3.6).

Tab. 3.6: *Mittelwertvergleich der Kollagencrosslinkspiegel im Urin in Abhängigkeit von der Krankheitsdauer der Spa*

	Krankheitsdauer	Mittelwert±SD	N	p
PYD (nmol/mmol CREA)	< 5Jahre ≥ 5Jahre	48,3± 25,2 47,5± 20,8	30 60	0,889
DPYD (nmol/mmol CREA)	< 5Jahre ≥ 5Jahre	12,2± 7,4 10,5± 4,9	30 60	0,349
PYD/DPYD	< 5Jahre ≥ 5Jahre	4,5± 1,4 4,8± 1,4	30 60	0,304
PYD fr (nmol/mmol CREA)	< 5Jahre ≥ 5Jahre	20,8± 9,7 19,0± 7,9	29 56	0,541
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	< 5Jahre ≥ 5Jahre	7,4± 5,4 7,8± 5,9	29 56	0,956
PYD/DPYD fr	< 5Jahre ≥ 5Jahre	3,2± 0,9 3,2± 1,4	29 56	0,623

SD: Standardabweichung

3.1.4 Kollagencrosslinks und Schober'sches Maß

Die Crosslinks und das Bewegungsmaß nach Schober zeigten keine signifikanten Korrelationen (Tab. 3.7).

Tab. 3.7: *Korrelationen zwischen Kollagencrosslinkspiegeln im Urin und Schober'schem Maß*

	Schober'sches Maß	
	r	p
PYD (nmol/mmol CREA)	-0,042	0,732
DPYD (nmol/mmol CREA)	-0,197	0,107
PYD/DPYD	0,235	0,098
PYD fr (nmol/mmol CREA)	-0,089	0,483
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	-0,131	0,297
PYD/DPYD fr	0,110	0,382

Nach Aufgliederung in eine Gruppe mit relativ guter Beweglichkeit (≥ 5 cm) im Schober-Test und einer Gruppe eingeschränkter Beweglichkeit (< 5 cm) zeigten sich höhere Mittelwerte im fortgeschrittenen Stadium. Diese Unterschiede waren aber nicht signifikant (Tab. 3.8).

Tab. 3.8: *Mittelwertvergleich der Kollagencrosslinkspiegel im Urin in Abhängigkeit vom Bewegungsmaß nach Schober*

	Schober (cm)	Mittelwert \pm SD	N	p
PYD (nmol/mmol CREA)	≥ 5 cm < 5 cm	43,8 \pm 24,9 50,3 \pm 20,4	30 38	0,089
DPYD (nmol/mmol CREA)	≥ 5 cm < 5 cm	11,7 \pm 4,9 13,1 \pm 6,6	30 38	0,072
PYD/DPYD	≥ 5 cm < 5 cm	4,4 \pm 1,1 4,0 \pm 1,0	30 38	0,061
PYD fr (nmol/mmol CREA)	≥ 5 cm < 5 cm	18,0 \pm 9,0 20,3 \pm 8,6	29 36	0,279
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	≥ 5 cm < 5 cm	6,5 \pm 4,5 8,9 \pm 7,5	29 36	0,091
PYD/DPYD fr	≥ 5 cm < 5 cm	3,2 \pm 1,0 2,8 \pm 1,0	29 36	0,329

SD: Standardabweichung

3.1.5 Kollagencrosslinks und Finger-Boden-Abstand

Zwischen dem Ausmaß der CL-Ausscheidung im Urin und dem Finger-Boden-Abstand (cm) zeigten sich für den Quotienten PYD/DPYD fr signifikante Korrelationen (SRKK: $r=0,379$; $p=0,002$; vgl. Abb.3.7). Die restlichen Werte zeigten keine signifikanten Korrelationen (Tab. 3.9).

Tab. 3.9: *Korrelationen zwischen Kollagencrosslinkspiegeln im Urin und dem Finger-Boden-Abstand*

	Finger-Boden-Abstand	
	r	p
PYD (nmol/mmol CREA)	0,004	0,973
DPYD (nmol/mmol CREA)	0,107	0,388
PYD/DPYD	0,185	0,133
PYD fr (nmol/mmol CREA)	0,046	0,719
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	0,202	0,115
PYD/DPYD fr	0,379	0,002

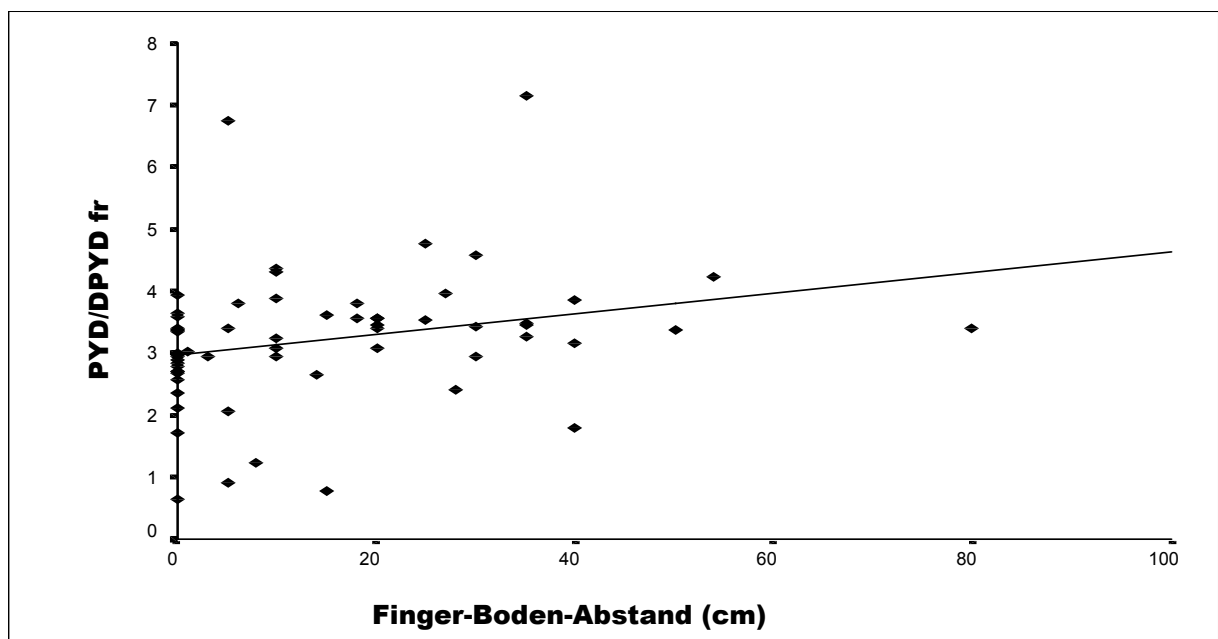


Abb. 3.7: *In einem Streudiagramm ist der Quotient PYD/DPYD fr in Abhängigkeit vom Finger-Boden-Abstand (cm) dargestellt. Dabei zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang (SRKK: $r=0,379$; $p=0,002$).*

Nach Unterteilung der Patienten in eine Gruppe größerer und eine geringerer Beweglichkeit zeigte sich ebenfalls für den Quotienten PYD/DPYD fr ein signifikanter Mittelwertunterschied (Mann-Whitney U-Test: $p=0,002$; vgl. Abb. 3.8), die restlichen Werte, ausgenommen DPYD fr, steigen bei fortgeschrittenem Stadium, dies ist aber nicht signifikant (Tab 3.10).

Tab. 3.10 : Mittelwertvergleich der Kollagencrosslinkspiegel im Urin in Abhängigkeit vom Finger-Boden-Abstand

	Finger -Boden- Abstand	Mittelwert\pmSD	N	p
PYD (nmol/mmol CREA)	< 10 cm	45,6 \pm 21,2	32	0,558
	> 10 cm	50,4 \pm 24,7	35	
DPYD (nmol/mmol CREA)	< 10 cm	11,3 \pm 5,8	32	0,927
	> 10 cm	11,5 \pm 6,4	35	
PYD/DPYD	< 10 cm	4,3 \pm 1,2	32	0,202
	> 10 cm	4,5 \pm 1,3	35	
PYD fr (nmol/mmol CREA)	< 10 cm	19,5 \pm 7,8	29	0,961
	> 10 cm	19,6 \pm 10,0	34	
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	< 10 cm	6,2 \pm 7,2	29	0,109
	> 10 cm	8,6 \pm 3,8	34	
PYD/DPYD fr	< 10 cm	2,9\pm 1,1	29	0,002
	> 10 cm	3,8\pm 1,0	34	

SD: Standardabweichung

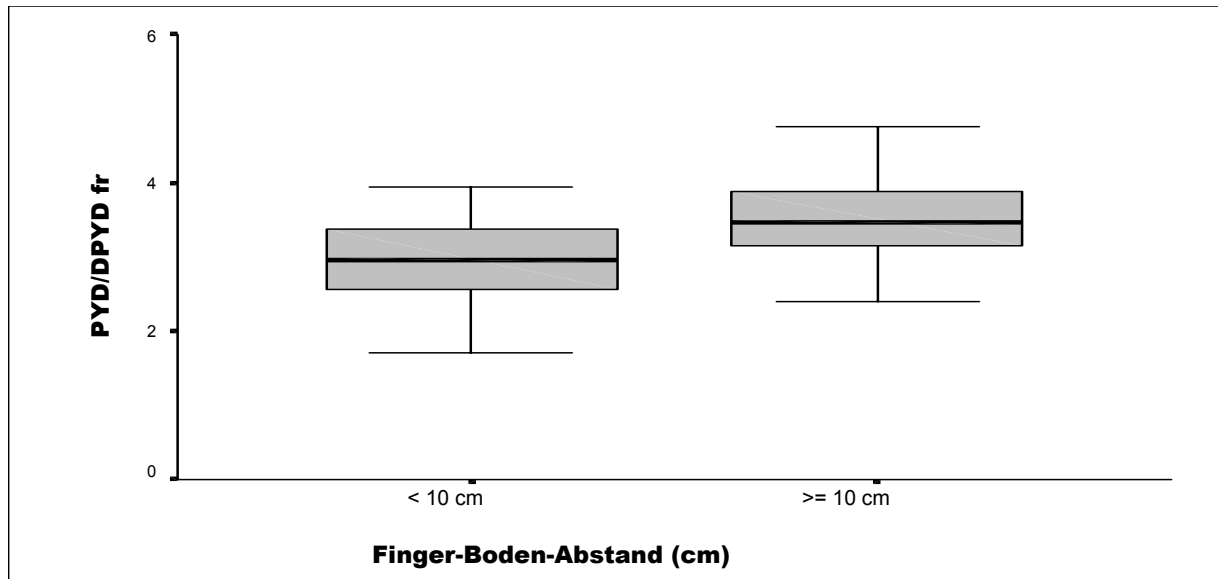


Abb. 3.8: *Häufigkeitsverteilung des Quotienten PYD/DPYD fr im Urin von Patienten unterschiedlicher Beweglichkeit im Boxplot. Hier zeigt sich ein signifikant erhöhter Mittelwert für Patienten mit guter Beweglichkeit (≥ 10 cm) (Mann-Whitney U-Test: $p=0,002$).*

3.1.6 Kollagencrosslinks und Einnahme von Nicht-steroidalen Antirheumatika-NSAR

Bei Unterteilung der Patienten in eine Gruppe mit und eine ohne Einnahme von NSAR zeigte sich für DPYD ($p=0,001$; vgl. Abb.3.9) und PYD/DPYD ($p=0,002$; vgl. Abb. 3.10) ein signifikanter Mittelwertunterschied. DPYD war unter Einnahme von NSAR niedriger, der Quotient PYD/DPYD hingegen höher. Eine Tendenz zu niedrigeren Werten unter NSAR Einnahme zeigte sich bei den anderen gemessenen Crosslinkdaten (Tab 3.11).

Tab. 3.11: Mittelwertvergleich der Kollagencrosslinkspiegel im Urin in Abhängigkeit von der NSAR-Einnahme

	NSAR-Einnahme	Mittelwert±SD	N	p
PYD (nmol/mmol CREA)	Nein Ja	58,1± 27,2 45,7± 21,1	11 78	0,220
DPYD (nmol/mmol CREA)	Nein Ja	16,6± 6,1 10,2±5,5	11 78	0,001
PYD/DPYD	Nein Ja	3,5± 0,9 4,8± 1,4	11 78	0,002
PYD fr (nmol/mmol CREA)	Nein Ja	22,9± 8,9 19,2± 8,5	11 73	0,292
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	Nein Ja	7,7± 2,6 7,3± 5,8	11 73	0,132
PYD/DPYD fr	Nein Ja	3,1± 1,0 3,2± 1,2	11 73	0,931

SD: Standardabweichung

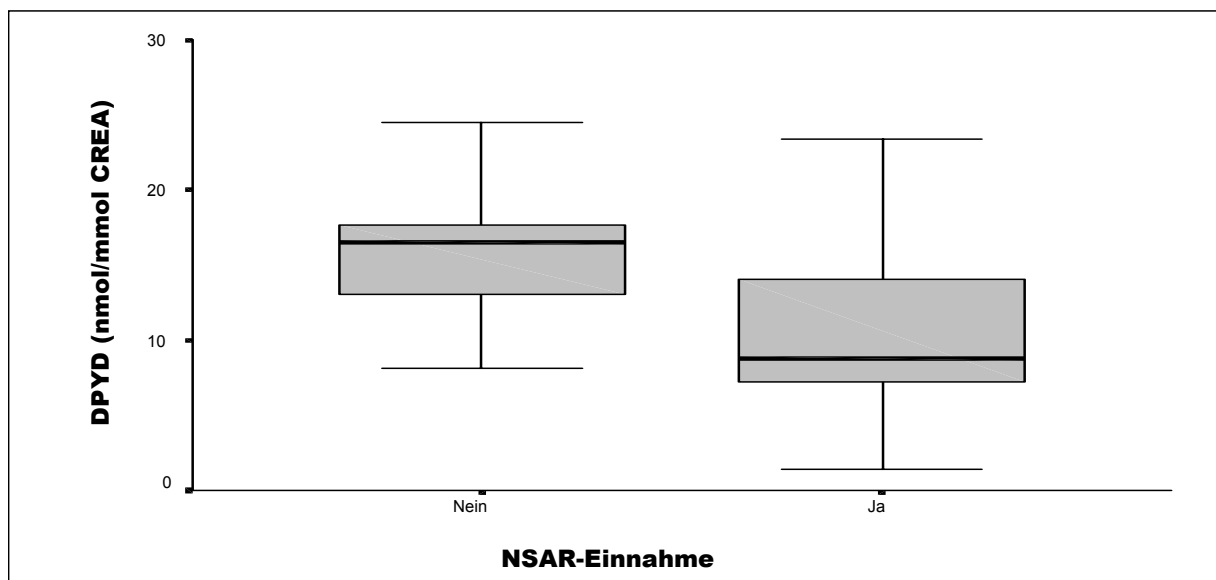


Abb. 3.9: Häufigkeitsverteilung der Urinspiegel von DPYD in Abhängigkeit von der Einnahme nichtsteroidaler Antirheumatika in einem Boxplot. Es zeigte sich für DPYD ein signifikant erniedrigter Wert bei Einnahme von NSAR (Mann-Whitney U-Test: $p=0,001$).

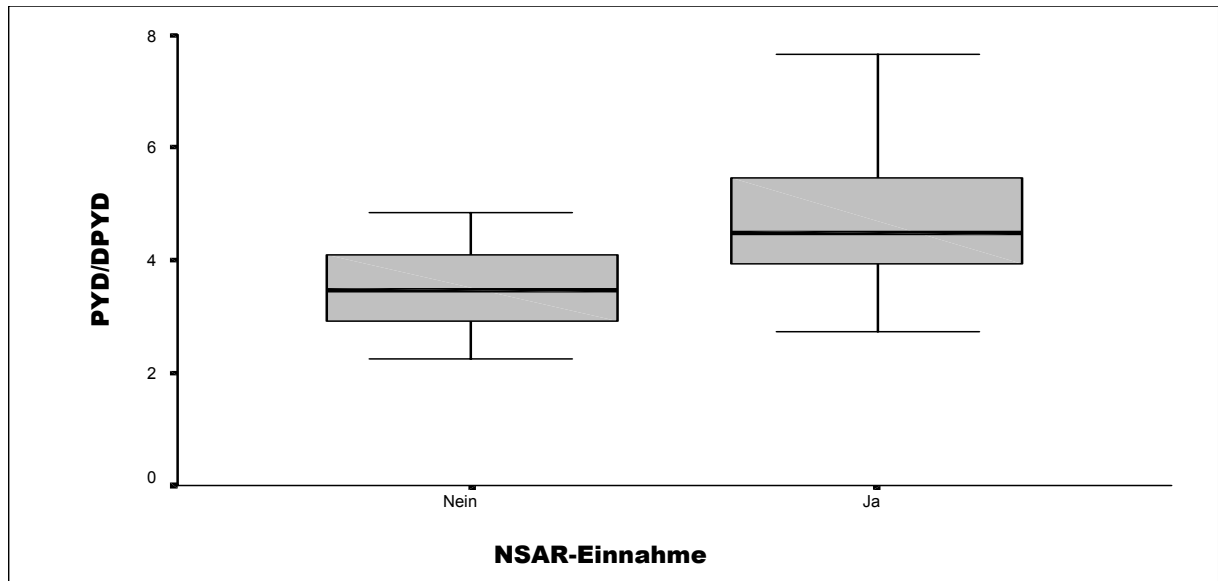


Abb. 3.10: *Häufigkeitsverteilung des Quotienten PYD/DPYD im Urin in Abhängigkeit von der Einnahme nichtsteroidaler Antirheumatika in einem Boxplot. Der Quotient PYD/DPYD war bei Einnahme von NSAR erhöht (Mann-Whitney U-Test: $p = 0,002$).*

3.1.7 Kollagencrosslinks und Sacroilitis

Nach Unterteilung der Patienten in ein frühes (1-2) und ein spätes Stadium (3-4) zeigten sich erhöhte Mittelwerte in fortgeschrittenen Stadien, diese Unterschiede waren aber nicht signifikant (Tab. 3.12).

Tab. 3.12: *Mittelwertvergleich der Kollagencrosslinkspiegel im Urin in Abhängigkeit vom Sacroilitisstadium*

	Sacroilitisstadium	Mittelwert±SD	N	p
PYD (nmol/mmol CREA)	Stadium 1-2 Stadium 3-4	41,1± 18,7 51,1± 20,9	31 46	0,326
DPYD (nmol/mmol CREA)	Stadium 1-2 Stadium 3-4	10,1± 5,2 11,6± 5,4	31 46	0,881
PYD/DPYD	Stadium 1-2 Stadium 3-4	4,5± 1,2 4,7± 1,4	31 46	0,419
PYD fr (nmol/mmol CREA)	Stadium 1-2 Stadium 3-4	18,4± 8,2 20,4± 7,8	29 44	0,518
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	Stadium 1-2 Stadium 3-4	7,2± 5,6 7,6± 6,0	28 44	0,510
PYD/DPYD fr	Stadium 1-2 Stadium 3-4	3,1± 1,0 3,5± 1,4	28 44	0,926

SD: Standardabweichung

3.1.8 Kollagencrosslinks und Syndesmophytenbildung

Nach Unterteilung der Patienten in eine Gruppe mit und eine ohne Syndesmophytenbildung zeigten sich für PYD (Mann-Whitney U-Test: $p=0,014$; vgl. Abb. 3.11) und DPYD (Mann-Whitney U-Test: $p=0,004$; vgl. Abb. 3.11) signifikant erhöhte Werte in der Gruppe mit Syndesmophytenbildung. Diese Tendenz zeigte sich auch für den Anteil der freien Kollagencrosslinks, jedoch ohne Signifikanz (Tab. 3.13).

Tab. 3.13: Mittelwertvergleich der Kollagencrosslinkspiegel in Abhängigkeit von der Syndesmophytenbildung

	Syndesmophytenbildung	Mittelwert \pm SD	N	p
PYD (nmol/mmol CREA)	keine Syndesmophyten Syndesmophyten	45,0 \pm 21,1 61,1 \pm 24,0	64 17	0,014
DPYD (nmol/mmol CREA)	keine Syndesmophyten Syndesmophyten	10,5 \pm 5,8 14,4 \pm 5,9	64 17	0,004
PYD/DPYD	keine Syndesmophyten Syndesmophyten	4,6 \pm 1,5 4,6 \pm 1,2	64 17	0,255
PYD fr (nmol/mmol CREA)	keine Syndesmophyten Syndesmophyten	19,7 \pm 8,6 21,3 \pm 9,2	62 15	0,328
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	keine Syndesmophyten Syndesmophyten	7,3 \pm 5,9 8,2 \pm 3,7	62 15	0,133
PYD/DPYD fr	keine Syndesmophyten Syndesmophyten	3,0 \pm 1,3 2,9 \pm 0,9	62 15	0,718

SD: Standardabweichung

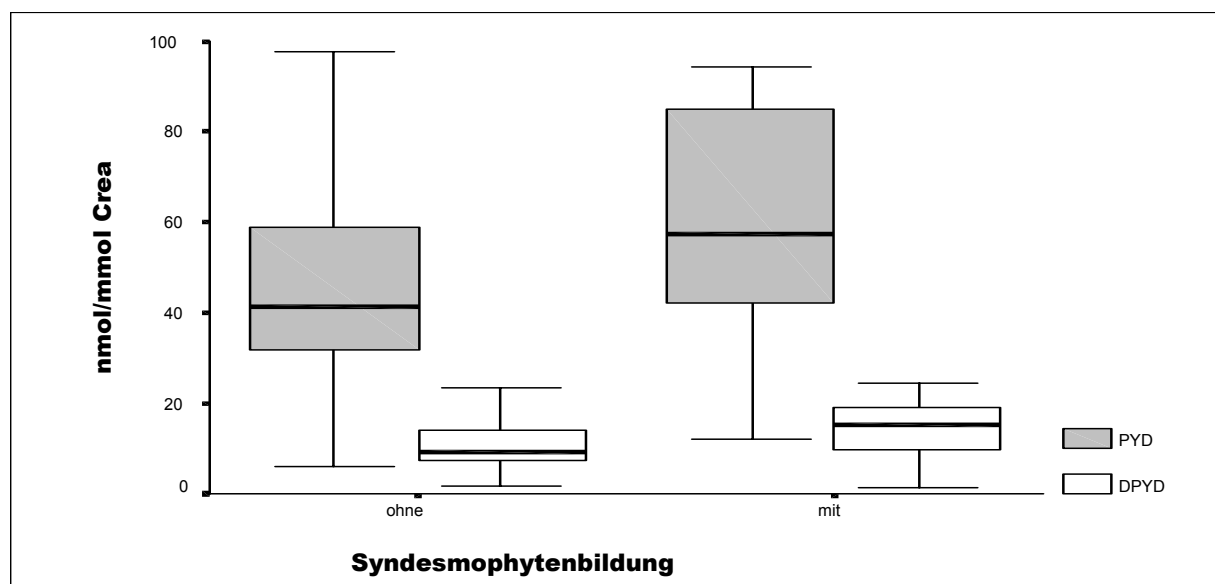


Abb. 3.11: Häufigkeitsverteilung der Urinspiegel von PYD und DPYD hinsichtlich der Syndesmophytenbildung im Boxplot. Dabei zeigten sich signifikant erhöhte Werte für die Gruppe mit Syndesmophytenbildung. (Mann-Whitney U-Test: $p=0,014$ für PYD; bzw. $p=0,004$ für DPYD).

3.1.9 Kollagencrosslinks und periphere Gelenkbeteiligung

Die Patienten wurden in eine Gruppe mit und eine ohne Gelenkbeteiligung unterteilt. Hier zeigten sich für PYD (Mann-Whitney U-Test: $p=0,001$; vgl. Abb. 3.12), PYD fr (Mann-Whitney U-Test: $p=0,002$; vgl. Abb. 3.12), DPYD fr (Mann-Whitney U-Test: $p=0,23$; vgl. Abb. 3.13) und den Quotienten PYD/DPYD (Mann-Whitney U-Test: $p=0,005$; vgl. Abb. 3.14) signifikant erhöhte Werte bei Beteiligung peripherer Gelenke. Für DPYD und PYD/DPYD fr war die Differenz nicht signifikant (Tab. 3.14).

Tab. 3.14: Mittelwertvergleich der Kollagencrosslinkspiegel in Abhängigkeit von der peripheren Gelenkbeteiligung

	Gelenkbeteiligung	Mittelwert \pm SD	N	p
PYD (nmol/mmol CREA)	ohne mit	43,6 \pm 19,9 60,4 \pm 25,0	58 23	0,001
DPYD (nmol/mmol CREA)	ohne mit	10,9 \pm 5,8 12,6 \pm 6,5	58 23	0,326
PYD/DPYD	ohne mit	4,4 \pm 1,2 5,2 \pm 1,5	58 23	0,005
PYD fr (nmol/mmol CREA)	ohne mit	18,3 \pm 8,6 24,7 \pm 7,3	55 21	0,002
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	ohne mit	6,5 \pm 3,7 10,3 \pm 8,1	55 21	0,023
PYD/DPYD fr	ohne mit	3,3 \pm 1,0 3,2 \pm 1,7	55 21	0,638

SD: Standardabweichung

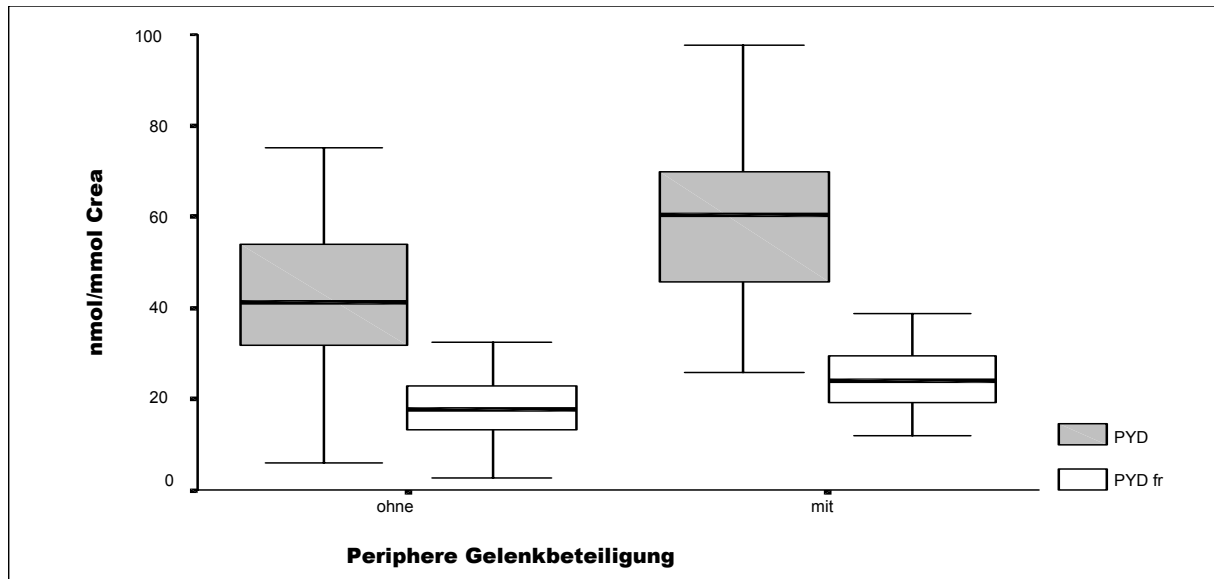


Abb. 3.12: Häufigkeitsverteilung der Urinspiegel von PYD und PYD fr hinsichtlich peripherer Gelenkbeteiligung im Boxplot. Dabei zeigten sich signifikant erhöhte Werte für die Gruppe mit Gelenkbeteiligung (Mann-Whitney U-Test: $p=0,001$ für PYD; bzw. $p=0,002$ für PYD fr).

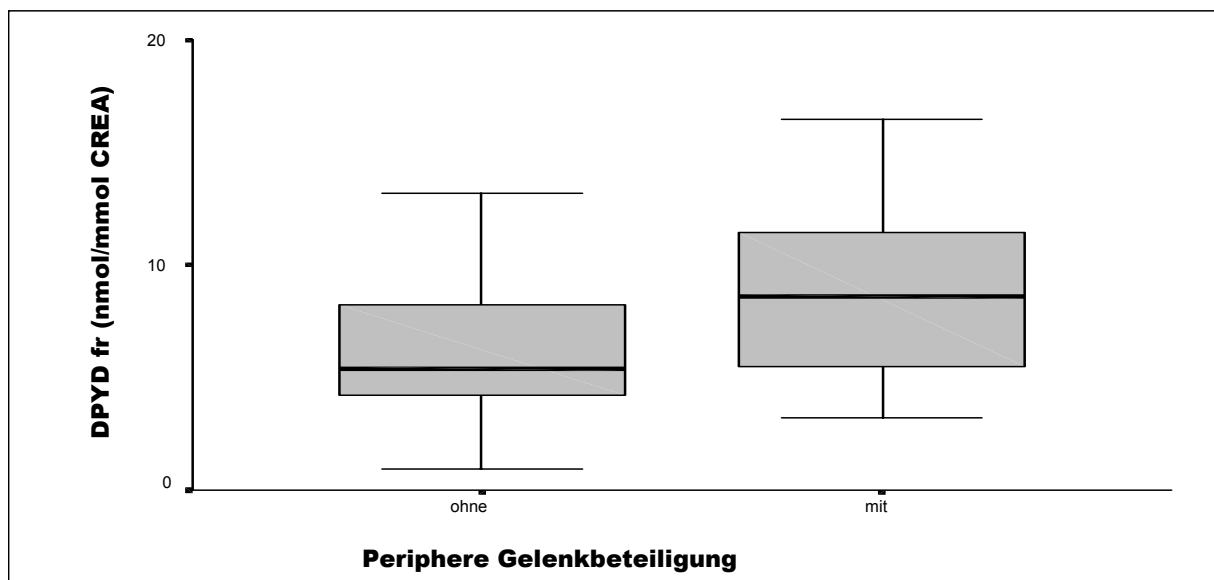


Abb. 3.13: Häufigkeitsverteilung der Urinspiegel von DPYD fr hinsichtlich peripherer Gelenkbeteiligung im Boxplot. Dabei zeigten sich signifikant erhöhte Werte für die Gruppe mit Gelenkbeteiligung (Mann-Whitney U-Test: $p=0,023$ für DPYD fr).

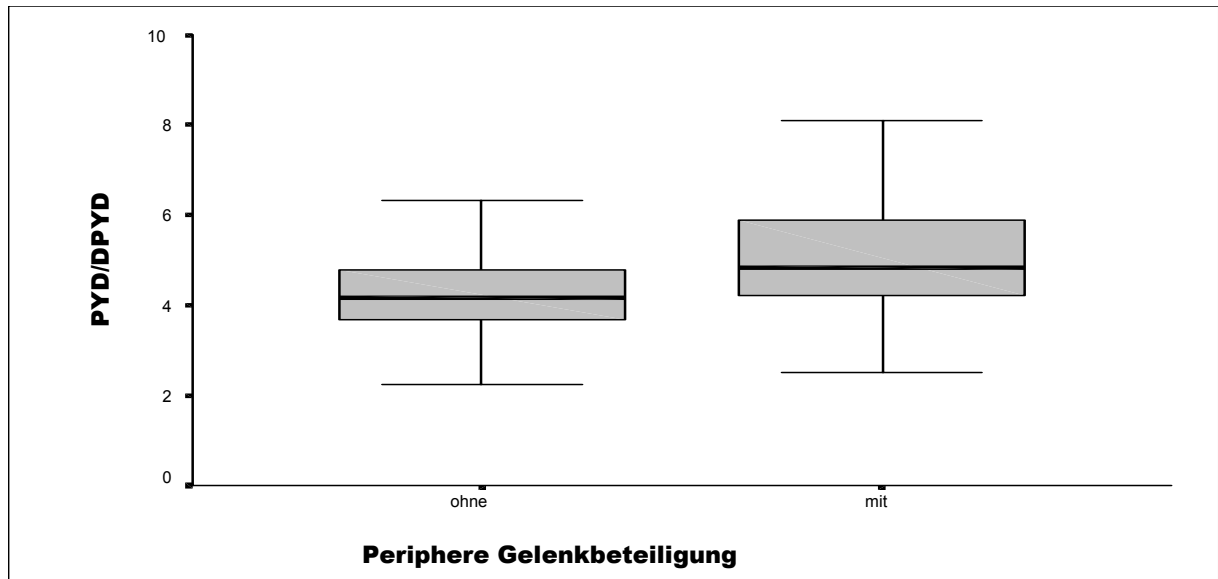


Abb. 3.14: Häufigkeitsverteilung des Quotienten PYD/DPYD im Urin hinsichtlich peripherer Gelenkbeteiligung im Boxplot. Dabei zeigten sich signifikant erhöhte Werte für die Gruppe mit Gelenkbeteiligung (Mann-Whitney U-Test: $p=0,005$ für PYD/DPYD).

3.2. Vergleich der bei Spa ermittelten Kollagencrosslinks mit Normalkontrollen und anderen Krankheitskollektiven

Im zweiten Teil der Studie sollten die bei dem Spa Kollektiv ermittelten Crosslinkwerte mit denen von gesunden Probanden (Normalkontrollen (NK)), einer Osteoporosegruppe (OP) und einer Gruppe an Rheumatoider Arthritis (RA) erkrankter Personen verglichen und auf Mittelwertunterschiede untersucht werden. In der folgenden Tabelle werden wesentliche epidemiologischen Daten der verschiedenen Kollektive aufgelistet (Tab. 3.15).

Tab. 3.15: Epidemiologische Daten der verschiedenen Kollektive

Kollektiv	Mittelwert Alter	Verhältnis ♂:♀	Anzahl ♂:♀
Spa	40 ± 12,4 Jahre	2,50 : 1	65 / 26
Normalkollektiv	40 ± 12,5 “	1 : 1,10	39 / 43
OP	58 ± 12,0 “	1 : 3,45	31 / 107
RA	55 ± 14,8 “	1 : 9	7 / 63

♂: männlich

♀: weiblich

3.2.1 Spa und Normalkontrollen

Es zeigten sich sowohl für die Crosslinks PYD (Mann-Whitney U-Test: $p=0,000$; vgl. Abb. 3.15), PYD fr (Mann-Whitney U-Test: $p=0,001$; vgl. Abb. 3.15), DPYD (Mann-Whitney U-Test: $p=0,006$; vgl. Abb. 3.16) und DPYD fr (Mann-Whitney U-Test: $p=0,021$; vgl. Abb. 3.16), als auch für den Quotient PYD/DPYD (Mann-Whitney U-Test: $p=0,000$; vgl. Abb. 3.17) signifikant erhöhte Mittelwerte im Vergleich zum Normalkollektiv, wohingegen der Quotient PYD/DPYD fr nicht signifikant erhöht ist (Tab. 3.16).

Tab. 3.16: Mittelwertvergleich der Kollagencrosslinkspiegel im Urin zwischen Spondylitis-ankylosans-Patienten und Normalkontrollen

	DIAGNOSE	Mittelwert \pm SD	N	p
PYD (nmol/mmol CREA)	Spa NK	47,7 \pm 22,1 32,0 \pm 17,3	91 82	0,000
DPYD (nmol/mmol CREA)	Spa NK	11,0 \pm 5,8 8,9 \pm 5,1	91 81	0,006
PYD/DPYD	Spa NK	4,6 \pm 1,4 4,0 \pm 1,9	91 81	0,000
PYD fr (nmol/mmol CREA)	Spa NK	19,5 \pm 8,2 15,7 \pm 6,4	87 55	0,001
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	Spa NK	7,6 \pm 5,7 5,8 \pm 4,8	86 55	0,021
PYD/DPYD fr	Spa NK	3,1 \pm 1,3 3,0 \pm 4,0	86 55	0,586

SD: Standardabweichung

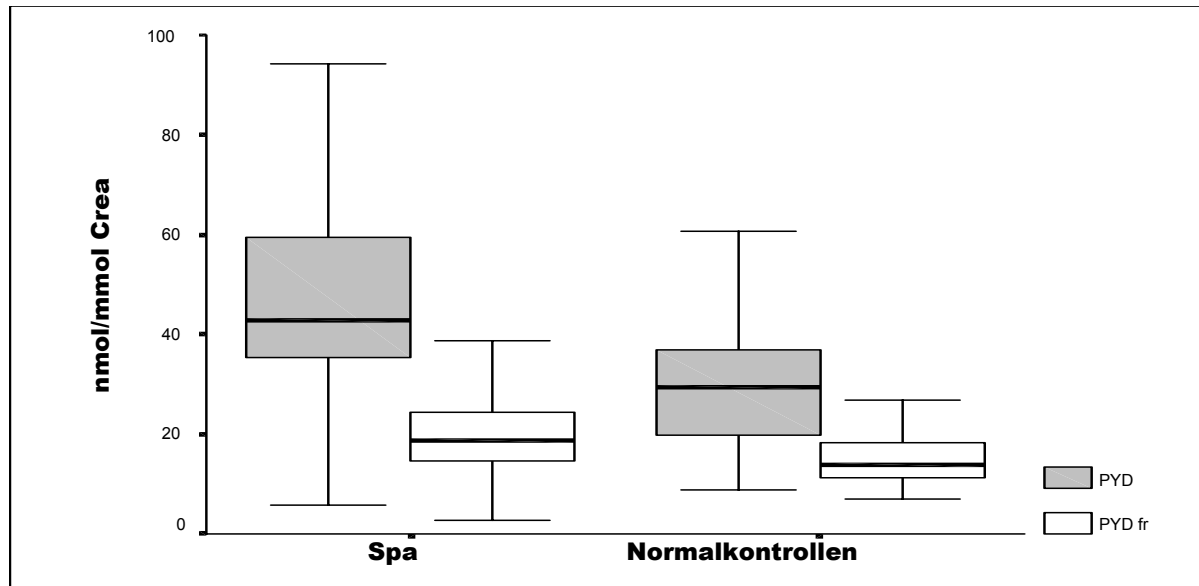


Abb. 3.15: Häufigkeitsverteilung der Urinspiegel von PYD und PYD fr im Boxplot. Dabei zeigten sich signifikant erhöhte Werte für die Spa-Gruppe (Mann-Whitney U-Test: $p=0,000$ für PYD, bzw. $p=0,001$ für PYD fr).

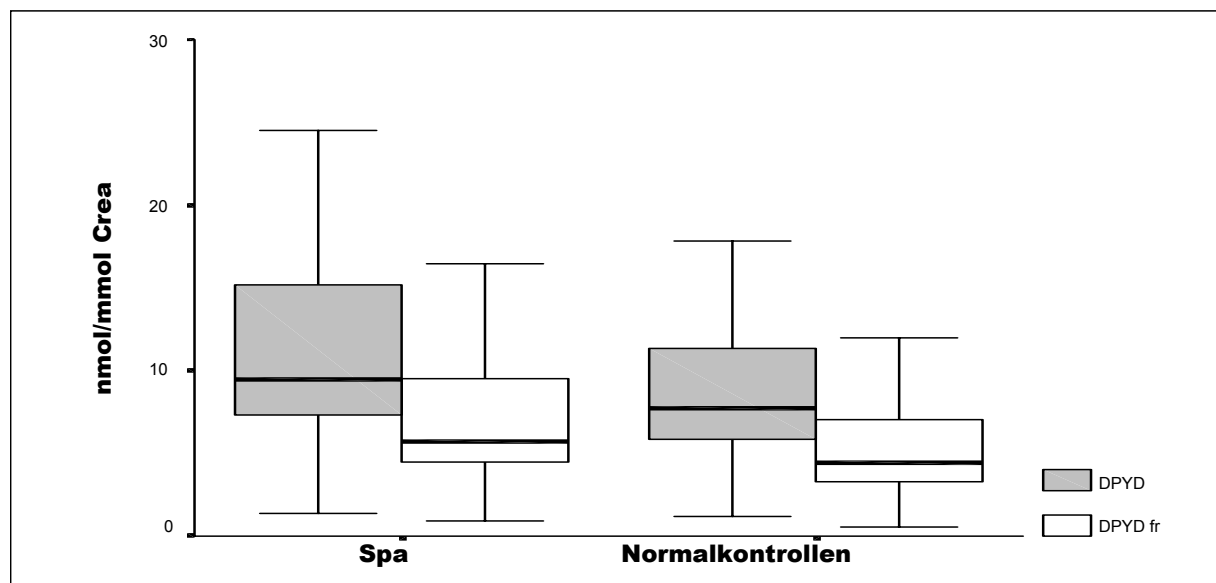


Abb. 3.16: Häufigkeitsverteilung der Urinspiegel von DPYD und DPYD fr im Boxplot. Dabei zeigten sich signifikant erhöhte Werte für die Spa-Gruppe (Mann-Whitney U-Test: $p=0,006$ für DPYD, bzw. $p=0,021$ für DPYD fr).

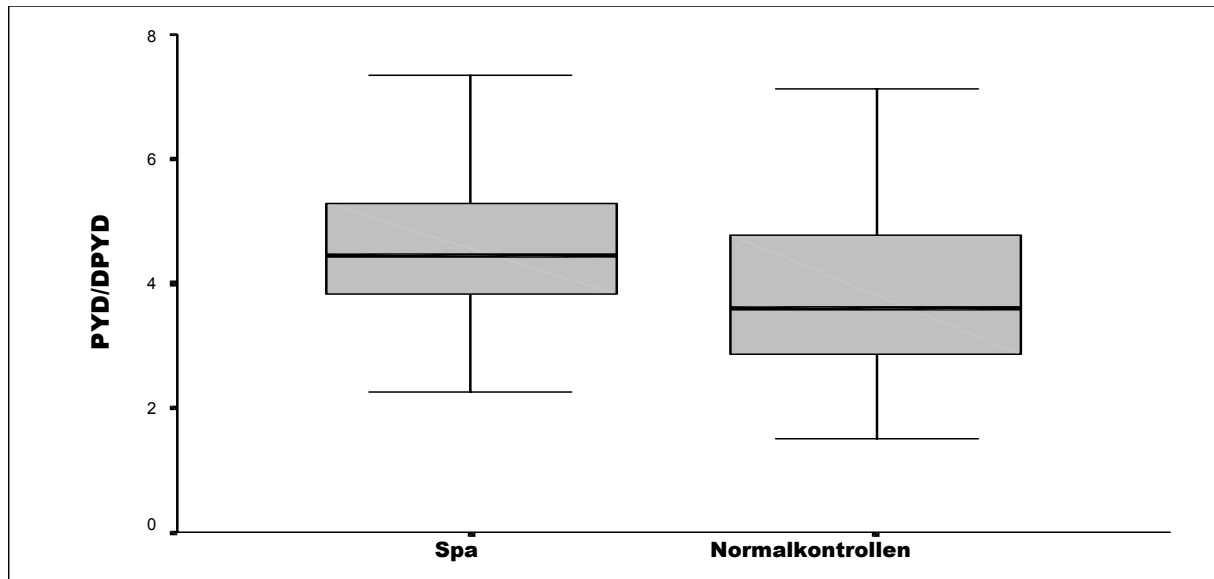


Abb. 3.17: Häufigkeitsverteilung des Quotienten PYD/DPYD im Boxplot. Dabei zeigten sich signifikant erhöhte Werte für die Spa-Gruppe (Mann-Whitney U-Test: $p=0,000$ für PYD/DPYD).

3.2.2 Spa und RA

Hier zeigte sich für die Crosslinks PYD (Mann-Whitney U-Test: $p=0,000$; vgl. Abb. 3.17), PYD fr (Mann-Whitney U-Test: $p=0,000$; vgl. Abb. 3.18), DPYD (Mann-Whitney U-Test: $p=0,000$; Abb. 3.17) und DPYD fr (Mann-Whitney U-Test: $p=0,004$; vgl. Abb. 3.18) ein signifikant höherer Mittelwert bei RA-Patienten. Auch der Quotient PYD/DPYD fr ist signifikant erhöht (Mann-Whitney U-Test: $p=0,000$; vgl. Abb. 3.18), wohingegen der Quotient PYD/DPYD nicht signifikant erhöht ist (Tab. 3.17).

Tab. 3.17: Mittelwertvergleich der Kollagencrosslinkspiegel im Urin zwischen Spondylitis ankylosans und Rheumatoider Arthritis

	DIAGNOSE	Mittelwert \pm SD	N	p
PYD (nmol/mmol CREA)	Spa RA	47,7 \pm 22,1 74,5 \pm 43,5	91 70	0,000
DPYD (nmol/mmol CREA)	Spa RA	11,0 \pm 5,8 14,8 \pm 10,7	91 70	0,000
PYD/DPYD	Spa RA	4,6 \pm 1,4 5,1 \pm 1,9	91 70	0,162
PYD fr (nmol/mmol CREA)	Spa RA	19,5 \pm 8,2 32,2 \pm 6,4	87 70	0,000
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	Spa RA	7,6 \pm 5,7 8,0 \pm 4,8	86 70	0,045
PYD/DPYD fr	Spa RA	3,1 \pm 1,3 4,5 \pm 4,0	86 70	0,000

SD: Standardabweichung

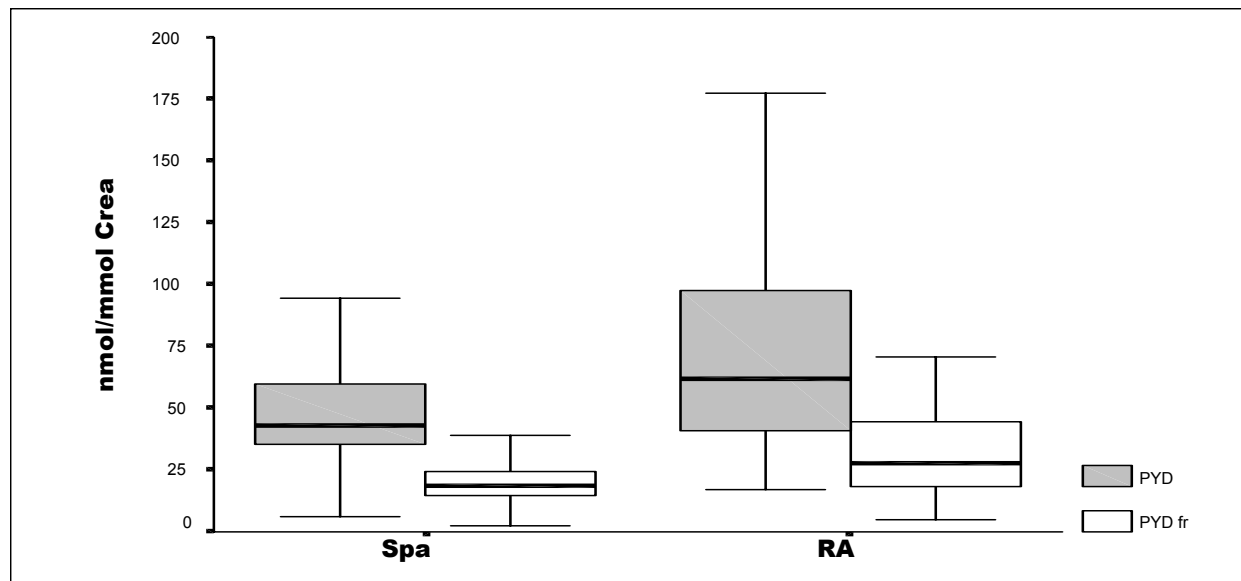


Abb. 3.18: Häufigkeitsverteilung der Urinspiegel von PYD und PYD fr im Boxplot. Dabei zeigten sich signifikant höhere Werte für die RA-Gruppe (Mann-Whitney U-Test: $p=0,000$ für PYD; bzw. $p=0,000$ für PYD fr).

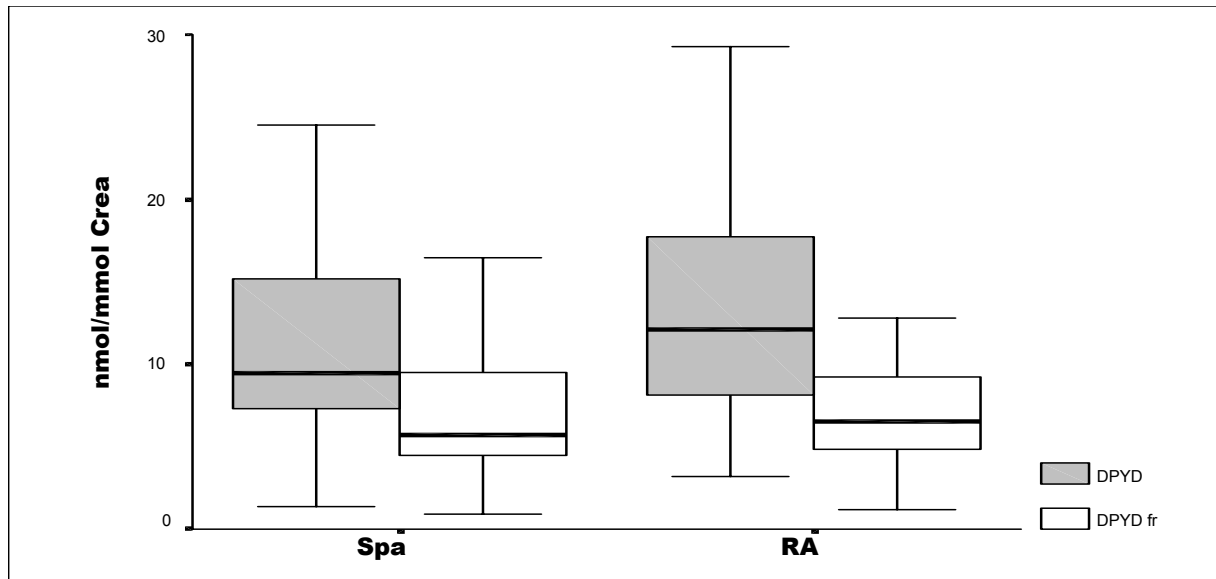


Abb. 3.19: Häufigkeitsverteilung der Urinspiegel von DPYD und DPYD fr im Boxplot. Dabei zeigten sich signifikant höhere Werte für die RA-Gruppe (Mann-Whitney U-Test: $p=0,000$ für DPYD, bzw. $p=0,004$ für DPYD fr).

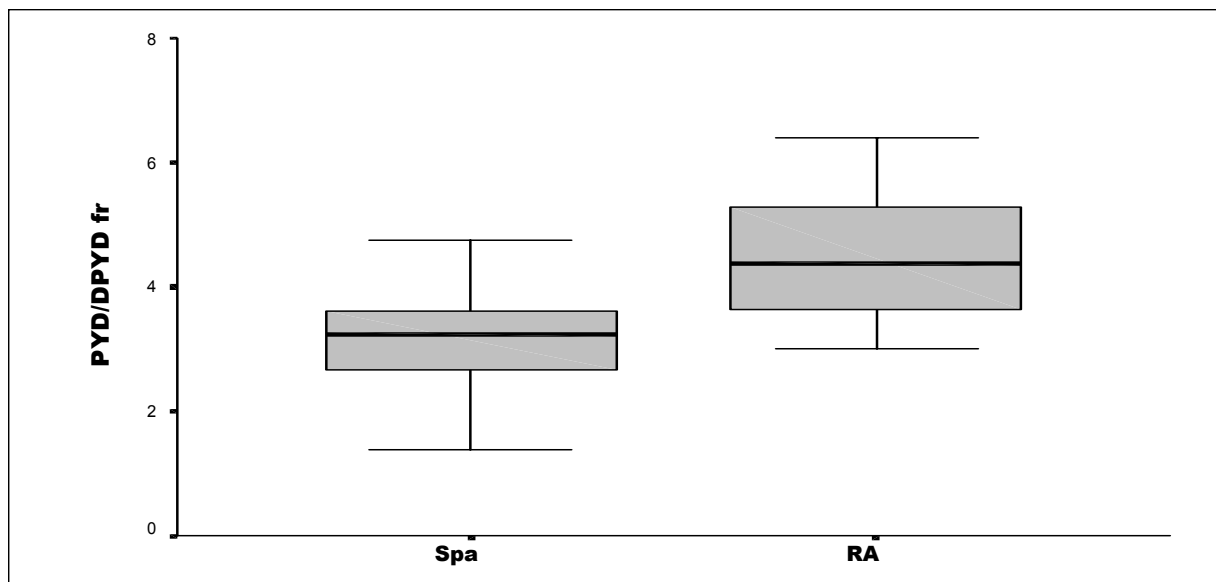


Abb. 3.20: Häufigkeitsverteilung von PYD/DPYD fr im Boxplot. Dabei zeigten sich signifikant höhere Werte für die RA-Gruppe (Mann-Whitney U-Test: $p=0,000$; für PYD/DPYD fr).

3.2.3 Spa und Osteoporose

Im Gruppenvergleich zeigte sich für die Crosslinks PYD (Mann-Whitney U-Test: $p = 0,035$; vgl. Abb. 3.21), PYD fr (Mann-Whitney U-Test: $p = 0,003$; vgl. Abb. 3.21), DPYD (Mann-Whitney U-Test: $p = 0,000$; vgl. Abb. 3.22) und DPYD fr (Mann-Whitney U-Test: $p = 0,029$; vgl. Abb. 3.22) ein signifikant höherer Mittelwert bei Osteoporosepatienten. Der Quotient PYD/DPYD ist dagegen bei Osteoporosepatienten signifikant niedriger (Mann-Whitney U-Test: $p = 0,000$; vgl. Abb. 3.23), während der Quotient PYD/DPYD fr sich nicht signifikant unterscheidet (Tab. 3.18).

Tab. 3.18: *Mittelwertvergleich der Kollagencrosslinkspiegel im Urin zwischen Spondylitis ankylosans- und Osteoporosepatienten*

	DIAGNOSE	Mittelwert \pm SD	N	p
PYD (nmol/mmol CREA)	Spa Osteoporose	47,7 \pm 22,1 57,6 \pm 36,9	91 138	0,035
DPYD (nmol/mmol CREA)	Spa Osteoporose	11,0 \pm 5,8 17,3 \pm 15,8	91 138	0,000
PYD/DPYD	Spa Osteoporose	4,6 \pm 1,4 3,6 \pm 0,9	91 138	0,000
PYD fr (nmol/mmol CREA)	Spa Osteoporose	19,5 \pm 8,2 25,2 \pm 13,7	87 138	0,003
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	Spa Osteoporose	7,6 \pm 5,7 8,3 \pm 5,4	86 138	0,029
PYD/DPYD fr	Spa Osteoporose	3,1 \pm 1,3 3,3 \pm 1,3	86 138	0,345

SD: Standardabweichung

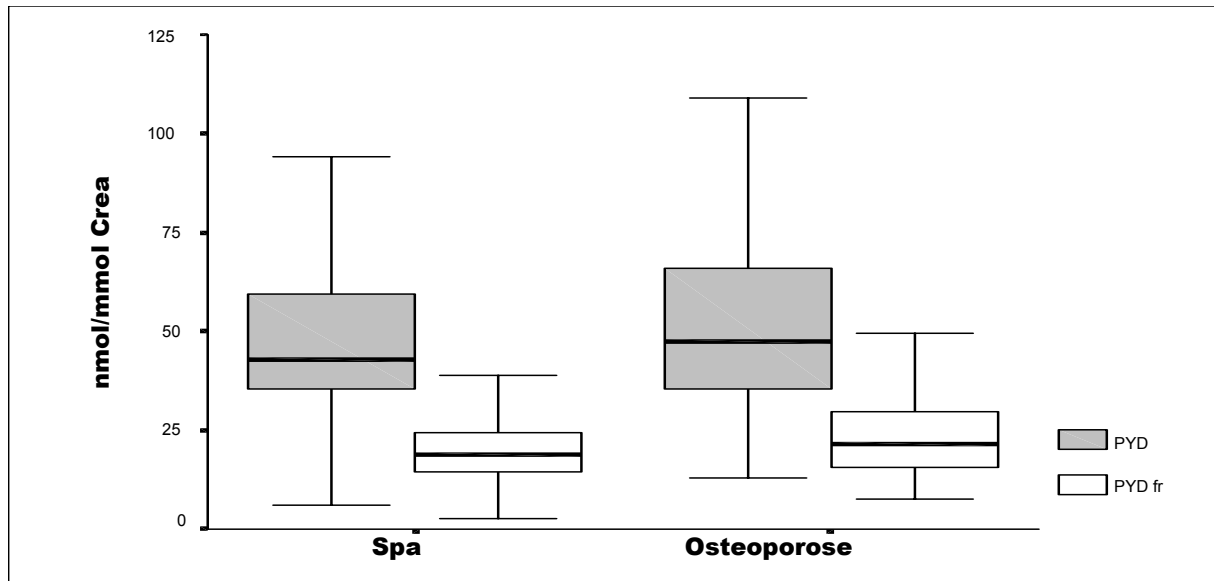


Abb. 3.21: Häufigkeitsverteilung der Urinspiegel von PYD und PYD fr im Boxplot. Dabei zeigten sich signifikant höhere Werte für die Osteoporosegruppe (Mann-Whitney U-Test: $p=0,035$ für PYD; bzw. $p=0,003$ für PYD fr).

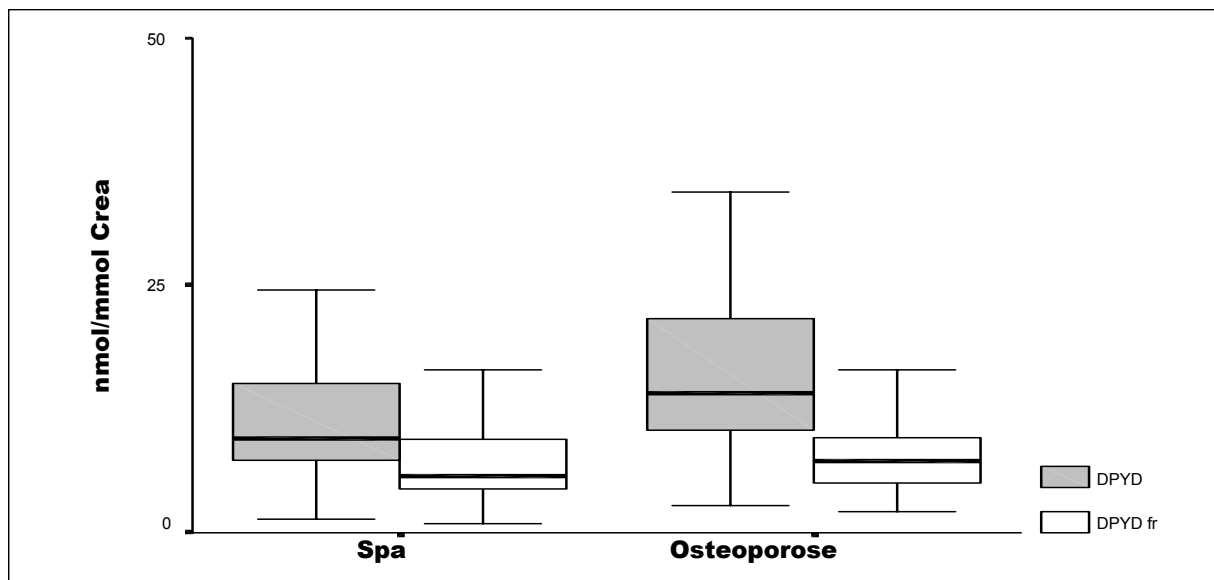


Abb. 3.22: Häufigkeitsverteilung der Urinspiegel von DPYD und DPYD fr im Boxplot. Dabei zeigten sich signifikant höhere Werte für die Osteoporosegruppe (Mann-Whitney U-Test: $p=0,000$ für DPYD; bzw. $p=0,029$ für DPYD fr).

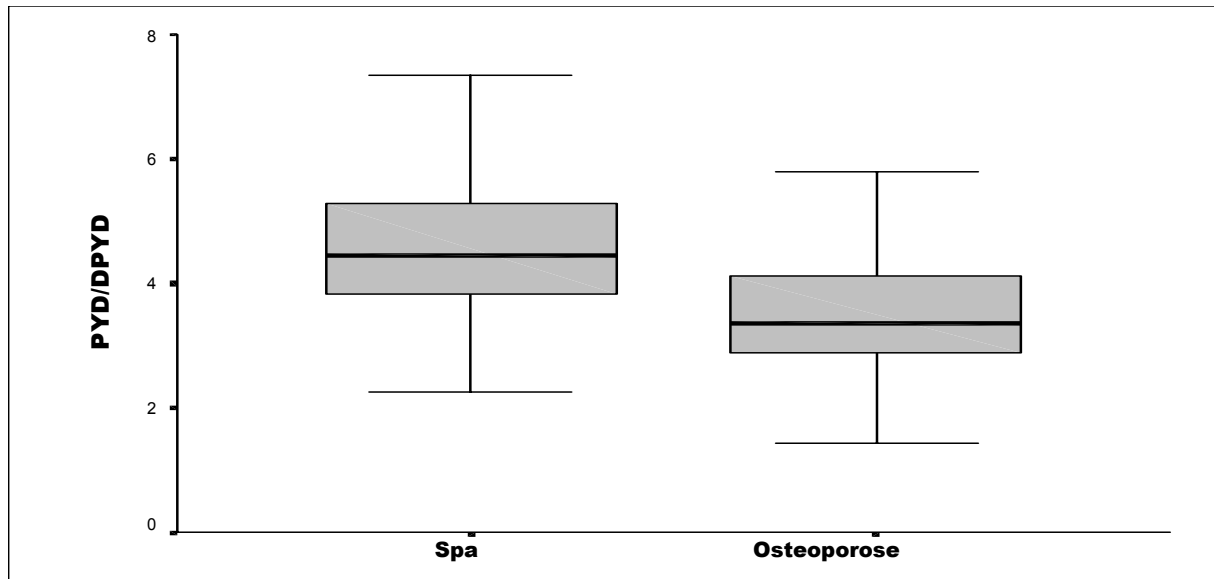


Abb. 3.23: Häufigkeitsverteilung des Quotienten PYD/DPYD im Boxplot. Dabei zeigten sich signifikant höhere Werte für die Spa-Gruppe (Mann-Whitney U-Test: $p=0,000$ für PYD/DPYD).

3.2.4 Mittelwertvergleich der einzelnen Kollektive in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht

Da sich die einzelnen Kollektive hinsichtlich Alter und Geschlechtszusammensetzung unterschieden (Tab. 3.15), haben wir die Daten noch einmal nach Geschlecht und Alter < 50 Jahre getrennt untersucht und in drei Tabellen zusammengefasst (Tab. 3.19-24). Von besonderem Interesse waren hier die Patienten ≤ 50 Jahre und hier besonders die männliche Untergruppe, da sich die von uns untersuchten Spa-Patienten zu ca. 2/3 aus Männern zusammensetzten, und das Durchschnittsalter bei 40 Jahren lag. Dabei bestätigten sich in allen Fällen die von uns beobachteten Tendenzen. Die Werte unseres Spa-Kollektives lagen in allen Untergruppen über denen der Normalkontrollen. Im Vergleich mit der Osteoporosegruppe bestätigten sich die für DPYD und DPYD fr in dieser Gruppe erhöhten Werte, mit tendenziell niedrigeren Werten für den Quotienten PYD/DPYD. Die RA-Gruppe wies dabei die höchsten Spiegel aller untersuchten Patientengruppen auf. Bei Gegenüberstellung unserer Werte mit denen der RA-Gruppe zeigten sich auch hier höhere Werte in der RA-Gruppe, insbesondere für PYD und PYD fr und die Quotienten PYD/DPYD und PYD/DPYD fr.

Tab. 3.19: Mittelwertvergleich der Urincrosslinkspiegel der einzelnen Kollektive (Gruppe: > 50 Jahre)

	Spa Mittelwert± SD (n=19)	OP Mittelwert± SD (n=106)	RA Mittelwert± SD (n=50)	NK Mittelwert± SD (n=12)
PYD (nmol/mmol CREA)	52,1±20,5	58,8±38,6	73,7±39,2	34,2±26,2
DPYD (nmol/mmol CREA)	11,5±5,6	18,8±17,0	15,5±10,7	7,1±3,5
PYD/DPYD	4,9±1,1	3,6±0,9	5,1±1,5	5,1±2,7
PYD fr (nmol/mmol CREA)	20,4±9,0	25,5±14,2	31,0±13,9	12,7±3,4
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	8,3±5,6	8,6±5,3	8,1±3,0	6,1±3,2
PYD/DPYD fr	3,0±1,1	3,3±1,2	4,4±1,3	2,6±1,3

SD: Standardabweichung

Tab. 3.20: Mittelwertvergleich der Urincrosslinkspiegel der einzelnen Kollektive (Gruppe: ≤ 50 Jahre)

	Spa Mittelwert± SD (n=72)	OP Mittelwert± SD (n=32)	RA Mittelwert± SD (n=20)	NK Mittelwert± SD (n= 68)
PYD (nmol/mmol CREA)	46,5±22,4	53,3±31,1	76,0±53,7	31,8±15,2
DPYD (nmol/mmol CREA)	10,8±5,5	15,7±10,5	13,0±10,7	9,3±5,3
PYD/DPYD	4,6±1,4	3,6±0,9	5,2±2,7	3,8±1,6
PYD fr (nmol/mmol CREA)	19,3±8,3	22,5±11,9	37,6±29,4	16,3±6,4
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	7,4±5,7	7,4±4,0	7,5±5,8	5,7±5,0
PYD/DPYD fr	3,2±1,2	3,2±1,1	4,8±2,2	3,1±3,5

SD: Standardabweichung

Tab. 3.21: Mittelwertvergleich der Urincrosslinkspiegel der einzelnen Kollektive (Gruppe: weiblich, > 50 Jahre)

	Spa Mittelwert± SD (n=7)	OP Mittelwert± SD (n=88)	RA Mittelwert± SD (n=46)	NK Mittelwert± SD (n=6)
PYD (nmol/mmol CREA)	58,4±12,8	53,9±26,7	72,3±35,8	27,5±6,2
DPYD (nmol/mmol CREA)	12,5±4,7	16,4±9,5	14,9±9,5	8,8±3,5
PYD/DPYD	5,0±1,6	3,6±0,9	5,2±1,5	3,6±1,8
PYD fr (nmol/mmol CREA)	20,8±9,4	25,8±11,7	30,4±13,8	13,6±3,4
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	12,9±6,5	8,2±4,4	7,5±2,8	7,5±3,1
PYD/DPYD fr	2,0±1,1	3,3±1,3	4,5±1,4	2,1±1,1

SD: Standardabweichung

Tab. 3.22: Mittelwertvergleich der Urincrosslinkspiegel der einzelnen Kollektive (Gruppe: weiblich, ≤ 50 Jahre)

	Spa Mittelwert \pm SD (n=19)	OP Mittelwert \pm SD (n=19)	RA Mittelwert \pm SD (n=17)	NK Mittelwert \pm SD (n=36)
PYD (nmol/mmol CREA)	37,0 \pm 15,1	57,1 \pm 34,5	66,1 \pm 48,6	36,4 \pm 14,5
DPYD (nmol/mmol CREA)	8,3 \pm 4,3	16,5 \pm 11,8	11,3 \pm 7,2	10,6 \pm 6,2
PYD/DPYD	4,8 \pm 1,2	3,7 \pm 0,9	5,9 \pm 2,8	4,0 \pm 1,5
PYD fr (nmol/mmol CREA)	18,7 \pm 8,3	23,0 \pm 12,8	33,3 \pm 27,7	18,6 \pm 7,9
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	8,1 \pm 7,4	8,4 \pm 5,4	8,2 \pm 4,2	7,8 \pm 6,0
PYD/DPYD fr	3,0 \pm 1,2	3,0 \pm 1,2	4,0 \pm 2,4	3,1 \pm 1,9

SD: Standardabweichung

Tab. 3.23: Mittelwertvergleich der Urincrosslinkspiegel der einzelnen Kollektive (Gruppe: männlich, > 50 Jahre)

	Spa Mittelwert \pm SD (n=12)	OP Mittelwert \pm SD (n=18)	RA Mittelwert \pm SD (n=4)	NK Mittelwert \pm SD (n=7)
PYD (nmol/mmol CREA)	48,5 \pm 23,9	82,6 \pm 69,4	92,4 \pm 72,9	40,8 \pm 36,9
DPYD (nmol/mmol CREA)	10,9 \pm 6,2	30,7 \pm 33,8	21,9 \pm 21,0	5,5 \pm 2,8
PYD/DPYD	4,7 \pm 0,9	3,0 \pm 0,8	4,8 \pm 1,4	6,5 \pm 2,9
PYD fr (nmol/mmol CREA)	20,0 \pm 9,2	28,9 \pm 23,0	38,7 \pm 16,4	9,8 \pm 1,2
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	5,4 \pm 2,0	10,2 \pm 9,2	9,7 \pm 5,2	3,7 \pm 1,9
PYD/DPYD fr	3,6 \pm 0,6	3,0 \pm 1,0	4,1 \pm 0,4	3,1 \pm 1,9

SD: Standardabweichung

Tab. 3.24: Mittelwertvergleich der Urincrosslinkspiegel der einzelnen Kollektive (Gruppe: männlich, ≤ 50 Jahre)

	Spa Mittelwert \pm SD (n=53)	OP Mittelwert \pm SD (n=13)	RA Mittelwert \pm SD (n=3)	NK Mittelwert \pm SD (n=32)
PYD (nmol/mmol CREA)	49,9 \pm 23,7	52,3 \pm 23,9	117,0 \pm 72,3	26,2 \pm 14,0
DPYD (nmol/mmol CREA)	11,8 \pm 6,1	14,3 \pm 7,7	25,3 \pm 20,1	7,7 \pm 3,5
PYD/DPYD	4,5 \pm 1,5	3,6 \pm 0,7	5,0 \pm 0,8	3,5 \pm 1,4
PYD fr (nmol/mmol CREA)	19,5 \pm 8,4	20,2 \pm 9,7	56,7 \pm 39,7	13,2 \pm 2,7
DPYD fr (nmol/mmol CREA)	7,1 \pm 5,0	7,2 \pm 2,4	12,7 \pm 10,4	3,9 \pm 1,9
PYD/DPYD fr	3,2 \pm 1,2	2,8 \pm 0,9	4,7 \pm 0,7	3,1 \pm 5,9

SD: Standardabweichung

3.3 Zusätzliche Betrachtung zu Entzündungsmarkern bei peripherer Gelenkbeteiligung

In der folgenden Tabelle sind die Mittelwerte der Entzündungsparameter in Abhängigkeit von der peripheren Gelenkbeteiligung dargestellt. Hier zeigen sich sowohl für das C-reaktive Protein (CRP) als auch für die Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) höhere Werte bei zusätzlicher Gelenkbeteiligung (Mann-Whitney U-Test: $p=0,012$ für CRP; bzw $p=0,041$ für BSG, Tab. 3.25).

Tab. 3.25: Mittelwerte der Entzündungsparameter CRP und BSG in Abhängigkeit von der Gelenkbeteiligung

	Gelenkbeteiligung	Mittelwert \pm SD	N	p
CRP (mg/l)	ohne	13,7 \pm 19,8	55	0,012
	mit	34,5 \pm 36,4	20	
BSG (mm/h)	ohne	18,9 \pm 18,1	56	0,041
	mit	26,1 \pm 18,0	22	

4. DISKUSSION

Die Spondylitis ankylosans (Spa) ist eine chronisch entzündliche Erkrankung mit bevorzugter Manifestation am Achsenskelett. Nicht immer parallel zum Entzündungsprozess kommt es darüberhinaus zu kalzifizierenden und ankylosierenden Veränderungen an der Wirbelsäule und den Iliosakralgelenken. Zusätzlich tritt eine vorwiegend die Wirbelkörper betreffende Rarefizierung der Knochenstruktur auf, die sich mittels Knochendichtemessungen und bildgebender Verfahren (CT) verifizieren lässt [103]. Diese Verminderung der Knochendichte im Sinne einer Osteoporose ist offensichtlich auch ursächlich in der Entwicklung von Wirbelkörperfrakturen beteiligt [25].

Aus diesem Grund ist es sinnvoll, die Entwicklung der Veränderungen des Knochens zu erfassen und zu quantifizieren. Hierfür stehen neben Knochendichtemessung verschiedene Marker sowohl des Knochenanbaus, als auch des Abbaus zur Verfügung, mit denen eine Beschreibung der momentanen Knochenremodelingaktivitäten möglich ist.

Die Ursache der osteoporotischen Veränderungen bei Spa ist bis heute nicht eindeutig geklärt. Außer reduziertem Knochenstoffwechsel werden auch Entzündungsvorgänge, Mobilitätsabnahme und medikamentöse Therapie als bedeutsam angegeben [114].

So wurde gerade die Beziehung zur Entzündungsaktivität in zahlreichen Studien mit zum Teil unterschiedlichen Ergebnissen untersucht [31, 36, 59, 61, 64, 69, 108, 114]. Auch der Einfluss der medikamentösen Therapie mit NSAR auf den Knochenmetabolismus ist mehrfach dargestellt worden [4, 7, 51, 58, 72, 74]. Dagegen ist die Bedeutung einer im Rahmen der Erkrankung auftretenden, zunehmenden Funktionseinschränkung und der Einfluss radiologisch fassbarer Veränderungen (Röntgen-Stadien) nur unzureichend überprüft worden [12, 28, 61, 98, 108].

Basierend auf diesen Erkenntnissen war es unser Ziel, Einflussfaktoren auf den Knochenmetabolismus bei Spa näher einzugrenzen und eine Aussage darüber zu treffen, inwieweit die Auswirkung der einzelnen Einflussfaktoren auf den Knochenmetabolismus gewichtet werden kann. Von besonderem Interesse war, ob sich dominierende Ursachen darstellen lassen und sich damit additive Therapieansätze ergeben.

Als Parameter des Knochenabbaus bestimmten wir die Gesamtausscheidung der Kollagen-Crosslinks Pyridinolin (PYD) bzw. Desoxypyridinolin (DPYD) sowie den Anteil der nicht proteingebundenen Vernetzungsmoleküle (PYD fr und DPYD fr). Die Bestimmung der

Kollagen-Crosslinks erfolgte dabei wegen besserer Quantifizierung im Urin. Diese Marker sind im Rahmen verschiedener rheumatischer Erkrankungen und auch bei Spa erhöht gefunden worden und gewannen in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung, da sie eine nicht invasive Möglichkeit bieten, den Knochenkatabolismus einzuschätzen.

Bei den Kollagen-Crosslinks handelt es sich um Brücken- bzw. Klamtermoleküle [48], welche die Quervernetzung der Kollagenfibrillen bewerkstelligen [93] und ausschließlich in reifem Kollagen vorkommen. Sie werden während der enzymatischen Kollagen Degradation freigesetzt, und renal vornehmlich unverändert ausgeschieden. Der Vorteil der Pyridinium-Crosslinks als Marker der Kollagen Degradation liegt darin, dass sie im Gegensatz zu anderen Kollagenabbaumarkern, wie beispielsweise Hydroxyprolin, eine hohe Gewebsspezifität besitzen [93]. PYD ist in nennenswerten Konzentrationen vor allem im Typ II Kollagen des Knorpels, aber auch in Knochen und Bänderkollagenen vorhanden [92, 95], DPYD dagegen fast ausschließlich in mineralisiertem Gewebe wie Knochen und Dentin [32, 92, 95].

Zur quantitativen Bestimmung der Pyridinium Crosslinks verwendeten wir das chromatographische Verfahren der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC). Die von Black et al. 1988 [11] erstmals zur Crosslinksbestimmung beschriebene Methode benutzt zur Detektion die natürliche Fluoreszenz der Pyridiniumderivate und erfolgt nach vorheriger Aufbereitung des Urins durch Hydrolyse, wodurch die proteingebundenen Anteile freigesetzt und einer anschließenden Säulen-Partitionschromatographie unterzogen werden. Diese Methode besitzt eine hohe Zuverlässigkeit und Sensitivität [11].

Um nähere Aussagen zu den Einflussfaktoren des Knochenmetabolismus machen zu können, prüften wir die Korrelation der Kollagen-Crosslinkwerte zu verschiedenen klinischen Parametern.

In weiterführenden Studien untersuchten wir, ob sich zwischen den in unserem Patientenkollektiv ermittelten Werten und denen bei anderen Erkrankungen Unterschiede zeigen, die krankheitsspezifische Aussagen erlauben.

Entzündungsaktivität und Crosslinkausscheidung

Die serologische Entzündungsaktivität wird bei entzündlich rheumatischen Erkrankungen hinreichend sensitiv mit Hilfe des C-reaktiven Proteins (CRP) und der Blukörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG) bestimmt [89].

Aus verschiedenen Untersuchungen an Spa Patienten ist bekannt, dass eine erhöhte Krankheitsaktivität mit einem Anstieg der Entzündungsparameter CRP und BSG einhergeht [21, 30].

Der Zusammenhang der Entzündungsaktivität mit dem Knochenstoffwechsel ist schon in anderen Studien untersucht worden. So vermuteten bereits Hanson et al. [46], dass Entzündungsvorgänge gerade am Beginn der Erkrankung entscheidenden Einfluss auf Demineralisationsprozesse haben. Ähnliche Aussagen machten auch Gratacos et al., die Patienten in einem frühen Stadium der Spa untersuchten, in dem sich noch keine ankylosierenden Wirbelsäulenveränderungen zeigten. Sie konnten dabei deutliche Beziehungen zwischen einem Abfall der Knochenmasse und erhöhter entzündlicher Aktivität ausmachen [44].

Bezüglich der Urin- und Serumkonzentration von PYD und DPYD in Abhängigkeit vom rheumatischen Entzündungsprozess gibt es eine Reihe von Publikationen, beispielsweise bei der Rheumatoiden Arthritis oder der Polymyalgia rheumatica [12, 27, 77, 94, 99]. Dabei fielen deutlich ansteigende Werte der CL-Ausscheidung während aktiver Krankheitsstadien auf.

In unserer Untersuchung zeigten sich für PYD ($r=0,360$; $p=0,001$) und den Quotienten PYD/DPYD ($r=0,262$; $p=0,016$) signifikante Korrelationen zum CRP (Tab. 3.1). Dies bestätigte sich auch in der folgenden Aufteilung des Patientengutes in eine Gruppe mit hoher ($CRP \geq 10$ mg/l) und eine mit niedriger entzündlicher Aktivität ($CRP < 10$ mg/l). PYD zeigte dabei im aktiven Stadium ($CRP \geq 10$ mg/l) signifikant erhöhte Mittelwerte ($p=0,042$) gegenüber der Gruppe mit geringer Aktivität ($CRP < 10$ mg/l). DPYD, PYD fr, DPYD fr und der Quotient PYD/DPYD fr waren dagegen nur unwesentlich erhöht (Tab. 3.2).

Ähnliche Resultate fanden wir bei Betrachtung der Korrelation von CL zu BSG. Auch hier bestanden signifikante Korrelation für PYD ($r=0,379$; $p=0,000$) und den Quotienten PYD/DPYD ($r=0,325$; $p=0,002$) mit erhöhten Werten in der Gruppe hoher Aktivität ($BSG \geq 30$ mm/h) (Tab. 3.3; 3.4). Statistisch zu sichern war dies jedoch nur für die Beziehung von BSG und PYD ($p=0,009$).

Die Ergebnisse unserer Studie belegen somit eine Beziehung zwischen der Crosslinkausscheidung als Parameter, bzw. Marker des Kollagenabbaus und der Entzündungsaktivität. Sie stimmen mit anderen Untersuchungsergebnissen zum Knochenstoffwechsel bei Spa überein. So beobachteten Marhoffer et al. [64] ebenfalls positive Korrelationen zwischen PYD und CRP bzw. BSG. Mitra et al. fanden dies darüber hinaus für PYD und DPYD zu CRP [69] und Maghroui et al. für DPYD und BSG, CRP [31]. Mac Donald et al. zeigten sowohl für PYD fr als auch für DPYD fr positive Zusammenhänge zum CRP [61]. Toussiro et al. [108] wiesen dies nur zwischen DPYD fr und BSG nach. Sie fanden bei ihren Patienten gleichzeitig eine erniedrigte Knochendichte im Sinne einer Osteopenie.

Analoge Zusammenhänge wurden, wie erwähnt, auch bei RA-Patienten gesehen. Dabei zeigt besonders PYD Korrelationen zu erhöhten Entzündungsmarkern [12, 41, 94, 105, 116], in geringerem Maß auch DPYD [94]. Im Gegensatz dazu ließen die freien Crosslinks keine eindeutige Tendenz erkennen [105]. Letztlich wird in allen erwähnten Studien der erhöhte Knochenabbau infolge entzündlicher Prozesse als eine wichtige Ursache osteoporotischer Veränderungen genannt.

Ob eventuell eine durch die Entzündung verursachte Abnahme der Knochenneubildung eine Rolle spielt, lässt sich mit unseren Untersuchungen nicht sagen, da wir keine Knochenanbaumarker untersuchten. Bei Untersuchungen im Rahmen der RA konnten Oelzner et al. feststellen, dass es bei hoher entzündlicher Aktivität zu einem Abfall des Vitamin-D Spiegels kommt. Die Folge ist eine negative Kalziumbilanz und nachfolgend eine verminderte Knochenneubildung [78]. Unter Therapie mit aktiven Vitamin-D-Metaboliten sahen Hein et al. umgekehrt eine Hemmung entzündlicher Prozesse und einen Abnahme des verstärkten Kollagenabbaus [49].

Auch bezüglich der Spa liegen Studien vor, in denen bei normalen Abbauvorgängen erniedrigte Anbauvorgänge gesichert wurden [36, 103, 114]. Dies könnte Folge einer eingeschränkten Osteoblastenfunktionen sein [107]. So fanden Mitra et al. [69] bei erhöhter Entzündungsaktivität signifikant erniedrigte Osteocalcinspiegel. Dabei ist kritisch anzumerken, dass es sich bei den von Mitra et al. untersuchten Patienten um milde Formen im Frühstadium der Spa handelte. Auch bei Franck et al. [36], die unter reduzierten Osteocalcinspiegeln keine vermehrte entzündliche Aktivität sahen, lag ein Frühstadium vor. Jedoch sehen beide in der durch ihre Daten ausgewiesenen geminderten Knochenneubildung eine Ursache für die in der Folge auftretende Osteopenie.

Gegensätzlich hierzu beobachteten sowohl Marhoffer et al., als auch Toussiro et al. normale Osteocalcinwerte, die keine signifikante Beziehung zu Entzündungsparametern aufwiesen. Deshalb plädieren sie für die These des erhöhten Abbaus [64, 108].

Aus den dargelegten Daten lässt sich schlussfolgern, dass es im Stadium erhöhter Entzündungsaktivität zu Veränderungen im Kochen- und Knorpelmetabolismus kommt, bei denen neben Störungen der osteoanabolen Prozesse besonders resorptive Phänomene eine Rolle spielen.

Die erhöhten Abbauprodukte in Phasen stärkerer Entzündungsaktivität werden durch unsere Daten zweifelsfrei belegt.

CL-Ausscheidung in Abhängigkeit von Krankheitsdauer und Bewegungsfunktion

Weiterhin untersuchten wir, ob sich zwischen den Crosslinks und der Krankheitsdauer bzw. den Bewegungsmaßen Schober'sches Maß und Finger-Boden-Abstand Beziehungen zeigen lassen. Immobilisation ist als eine Ursache eines vermehrten Knochenabbaus bzw. der Osteoporose bekannt [46, 114]. Da die Beweglichkeit bei Spa im fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung abnimmt, könnte sich dies in einem Anstieg der Crosslinkausscheidung bei längerer Krankheitsdauer oder eingeschränkter Beweglichkeit ausdrücken.

Unsere Patienten wiesen eine durchschnittliche Krankheitsdauer von 12,3 Jahren auf und lagen somit im unteren Bereich im Vergleich mit anderen Studien [31, 61, 108, 117]. Wir konnten zwischen Crosslinkausscheidung und Krankheitsdauer keine signifikanten Korrelationen nachweisen (Tab. 3.5). Dies bestätigte sich auch nach Unterteilung in ein frühes und ein spätes Krankheitsstadium durch ähnliche Mittelwerte in beiden Gruppen (Tab. 3.6).

Unsere Ergebnisse stimmen dabei mit Untersuchungen anderer Autoren überein, die auch keine Zusammenhänge zwischen Krankheitsdauer und dem aktuellen Knochenmetabolismus fanden [61, 64]. Dabei ist zu beachten, dass Entzündungsphänomene nicht von der Erkrankungsdauer abhängen. So beschrieben Kennedy et al., dass die momentane Aktivität der Erkrankung unabhängig von ihrer Dauer ist [53].

Jedoch fanden Toussiro et al. [108] und Yilmaz et al. [117] signifikant erhöhte Werte für PYD fr und DPYD fr, bzw. DPYD im frühen Stadium der Erkrankung.

Da sich auch in anderen Studien bereits in frühen Stadien Demineralisationsprozesse nachweisen ließen [28], würden diese bei Annahme eines positiven Zusammenhangs zwischen Krankheitsdauer und Crosslinkausscheidung nur unzureichend erklärt [114].

Somit scheint der Aussagewert der Krankheitsdauer im Bezug auf momentane Knochenumbauvorgänge nur gering zu sein. Die frühe Demineralisation dürfte viel eher Folge der Entzündungsreaktion sein.

Für das Bewegungsmaß Schober konnten wir ebenfalls keine signifikanten Korrelationen zur CL-Ausscheidung nachweisen (Tab. 3.7), auch wenn sich im fortgeschrittenen Stadium ($<5\text{cm}$) tendenziell erhöhte Werte zeigten (Tab. 3.8). Der Finger-Boden-Abstand korrelierte dagegen positiv zum Quotienten PYD/DYPD fr ($r=0,379$; $p=0,002$) (Tab. 3.9) und war auch im fortgeschrittenen Stadium für diesen Wert im Unterschied zu den übrigen signifikant erhöht ($p=0,002$) (Tab. 3.10).

Dabei ist anzumerken, dass die freien Crosslinks einen eher konstanten Ausscheidungsmodus besitzen. Dies ist dadurch zu erklären, dass die Osteoklasten primär crosslinkvernetzte Peptide freisetzen. Diese werden erst im weiteren Verlauf aufgespalten und dann als freie Crosslinks messbar [88]. Somit könnten die erhöhten Werte durchaus längerfristige Schwankungen im Rahmen einer abnehmenden Bewegungsfunktion widerspiegeln.

MacDonald et al. konzentrierten sich nur auf das Bewegungsmaß Schober. Sie konnten keine signifikanten Beziehungen zur Crosslinkausscheidung feststellen. Einschränkend muss hierzu erwähnt werden, dass ihre Patientengruppe keine reine Spa-Gruppe darstellte, sondern „seronegative Spondylarthropathien“ in ihrer Gesamtheit untersucht wurden, bei denen diese Bewegungseinschränkungen der Wirbelsäule nur teilweise bedeutsam sind [61].

Reid et al. stellten sogar fest, dass die Knochendichte bei eingeschränkter Beweglichkeit erhöht ist. Sie vermuteten aber, dass dies durch eine vermehrte Syndesmophytenbildung vorgetäuscht werden könnte, und somit Resorptionsvorgänge im Inneren des Wirbelkörpers verdeckt werden würden [28].

El Maghraoui et al. beobachteten dagegen negative Korrelationen zwischen dem Schoberschen Maß und der DPYD Ausscheidung [31]. Dies würde für einen Anstieg des Kollagenabbaus bei reduzierter Bewegungsfunktion sprechen.

Damit wird die von uns gefundene Tendenz bestätigt, die wir sowohl für das Schober'sche Maß, als auch den Finger-Boden-Abstand beobachten konnten, dass bei eingeschränkter Beweglichkeit eine erhöhte CL-Ausscheidung vorliegt. Nicht berücksichtigt ist dabei,

inwieweit subjektive Faktoren, wie Tagesverfassung und Compliance des Untersuchten, den Aussagewert der Bewegungsmaße Schober und Finger-Boden-Abstand einschränken.

Weiterhin ist bekannt, dass Phasen hoher entzündlicher Aktivität die Beweglichkeit erheblich vermindern können [89]. Damit läge hier eine Erklärung für unsere Beobachtungen, die einen signifikanten Zusammenhang zwischen Entzündungsaktivität und CL-Ausscheidung zeigen konnten.

Somit stellt die Messung der Bewegungsfunktion einen auch durch die Entzündung beeinflussten Faktor dar, deren Auswirkung auf den Knochenmetabolismus deshalb eingeschränkt zu interpretieren ist.

CL Ausscheidung und medikamentöse Therapie

Ein weiterer Aspekt unserer Untersuchungen betraf die medikamentöse Behandlung der Spa mit NSAR, die einen wichtigen Baustein in der Therapie der Spa darstellen, und als mögliche Ursache für osteoporotische Veränderungen angegeben werden [114].

Die von uns untersuchten Patienten nahmen in 78 Fällen (88 %) entweder intermittierend oder ständig NSAR ein, in 11 Fällen (12 %) wurden keine NSAR eingenommen.

Nach Aufteilung des Patientenguts in eine Gruppe mit und eine ohne NSAR-Einnahme zeigte sich eine geringere Crosslinkausscheidung unter NSAR. Für DPYD ($p=0,001$) war dies signifikant. Dies ist zunächst bemerkenswert, da davon auszugehen ist, dass Patienten mit NSAR eine im Mittel höhere entzündliche Aktivität aufweisen. Auch für den Quotienten PYD/DPYD ($p=0,002$) zeigte sich bedingt durch den starken Abfall des DPYD ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen, mit erhöhtem Wert unter NSAR (Tab. 3.11).

Unsere Beobachtungen würden somit gegen die von Will et al. vermutete Theorie der Wirkung von NSAR als Osteoporoseursache sprechen, die auch von ihnen selbst angezweifelt wird, da sich keine deutlichen Beziehungen zur NSAR-Einnahme zeigen ließ [114].

In anderen Untersuchungen zum Knochenstoffwechsel wird dagegen eher eine Abnahme resorptiver Prozesse unter Einnahme von NSAR beschrieben [4, 7, 51, 58, 72, 74]. So konnten Morton et al. in einem Kollektiv älterer Frauen deutlich erhöhte Knochendichtewerte unter NSAR-Einnahme zeigen [72]. Lane et al. beobachteten bei ovariectomierten Ratten stark

reduzierte Kochenabbauvorgänge und führen dies auf eine NSAR-vermittelte Abnahme der Osteoklastenaktivität zurück. Eine Hemmung der Osteoblastenfunktion, welche die Theorie des Osteoporose- begünstigenden Einflusses von NSAR unterstützen würde, trat erst bei sehr hohen Medikamentenspiegeln auf und lässt dies unter therapeutischen Spiegeln eher unwahrscheinlich erscheinen [58].

Schließlich fanden Murakami et al. in ihrer Studie an Ratten mit induzierter Arthritis einen fehlenden Crosslinkanstieg [74] bei Verabreichung von NSAR. Der Crosslink-senkende Effekt wurde auch in weiteren Studien beschrieben und hier mit der durch die NSAR vermittelten Reduktion der Entzündungsaktivität erklärt [113].

Gegensätzlich zu unseren Ergebnissen konnten Marhoffer et al. keine Unterschiede der CL-Exkretion zwischen Patienten mit und ohne NSAR-Therapie feststellen. Sie vermuteten deshalb, dass die NSAR keinen Einfluss auf den Knochenstoffwechsel haben [64].

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die NSAR zum einen die erhöhten Prostaglandinspiegel senken, die eine Osteoklastenaktivierung und in deren Folge vermehrte Knochenresorption bedingen [4, 72]. Zum anderen bewirken sie eine Schmerzreduktion, wodurch die Beweglichkeit der Patienten zunimmt [29]. Das Risiko einer entzündungsbegünstigten- bzw. Inaktivitätsosteopenie wird nach unseren Daten somit verringert.

CL-Ausscheidung und radiologische Veränderungen

Abschließend suchten wir nach Beziehungen zwischen den CL-Spiegeln und den im Rahmen der Erkrankung auftretenden radiologischen Veränderungen. Diese sind neben der Sacroiliakalgelenksarthritis, die Syndesmophytenbildung und die periphere Gelenkbeteiligung.

Die Sacroiliakalgelenksarthritis zählt zu den wichtigsten Diagnosekriterien der Spa und tritt bereits im Anfangsstadium der Erkrankung auf. Dabei lassen sich nach den New Yorker Kriterien [71] fünf Schweregrade (0-4) unterscheiden.

Unsere Patienten zeigten einen Durchschnittswert von 2,83. Nach Aufteilung der Patienten in eine Gruppe früher (Grad 1-2) und eine späterer (Grad 3-4) Veränderungen beobachteten wir

im fortgeschrittenen Stadium tendenziell höhere CL-Spiegel. Der Unterschied war aber nicht signifikant (Tab. 3.12).

In der Literatur finden sich hierzu kaum Angaben. So schrieben lediglich MacDonald et al., dass sie bei Patienten unterschiedlicher Sacroilitisgrade keine Differenzen hinsichtlich der Crosslinkausscheidung feststellen konnten, ohne dies detailliert auszuführen [61].

Andere Autoren, die den Knochenstoffmetabolismus bei Spa untersuchten und die radiologischen Befunde erfassten, prüften nicht auf Zusammenhänge von radiologischen Befunden und Crosslinkausscheidung.

Syndesmophyten sind bei Spa charakteristische Veränderungen des fortgeschrittenen Stadiums und können bis zur vollständigen Einsteifung der Wirbelsäule führen [90].

Wir fanden diese bei 17 Patienten (19%) in einer ausgeprägten Form, ähnlich wie Yilmaz et al [117]. Bei Unterteilung in eine Gruppe ohne und eine mit Syndesmophytenbildung sahen wir statistisch gesicherte Mittelwertunterschiede für PYD ($p=0,014$) und DPYD ($p=0,004$). Die restlichen Werte zeigten eine ansteigende Tendenz im Stadium radiologisch nachweisbarer Syndesmophyten, dies war aber nicht signifikant (Tab. 3.13).

Es finden sich hier keine vergleichbaren Daten, jedoch wird die Syndesmophytenentstehung verschiedentlich im Kontext mit Untersuchungen zum Knochenstoffwechsel bei Spa erwähnt. Dabei zeigte sich, dass es nach anfänglich erniedrigter Knochendichte bei erhöhtem Knochenabbau im weiteren Krankheitsverlauf zu einem Anstieg kommt und die Formation von Syndesmophyten eine eventuelle Ursache darstellen könnte [28, 98].

Eine frühere Studie von Devogelaer et al. konnte aber mit Hilfe von Computertomographien darstellen, dass die mit der Syndesmophytenbildung in Zusammenhang gebrachten Knochendichteanstiege in äußeren Wirbelbereichen auftreten, während im inneren Demineralisationsprozesse zu beobachten sind [25].

So lässt sich in Anbetracht der Ergebnisse vermuten, dass auch im fortgeschrittenem Stadium der Erkrankung zumindest im spongiösen Knochenanteil resorptive Vorgänge auftreten. Dies ist aufgrund der erhöhten CL Ausscheidung bei Spa naheliegend.

Periphere Gelenkbeteiligungen treten sowohl im frühen als auch im fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung auf und haben großen Einfluss auf die Funktionsbeeinträchtigung des Spa-Patienten [50]. Da die Arthritis in der Regel nur eine geringe Destruktionstendenz zeigt, wird sie meist erst im späten Stadium radiologisch mit erosiven Veränderungen sichtbar [65].

Wir konzentrierten uns deshalb neben den radiologisch diagnostizierten Fällen auch auf Patienten, bei denen sich zum Zeitpunkt der Urinabnahme eine Gelenkbeteiligung durch klinische Symptome, wie Schmerzen, Rötung und Schwellung nachweisen ließ. Dies war bei 23 Patienten (25 %) der Fall. Hier zeigten sich nach Unterteilung in Gruppierungen mit und ohne Gelenkbeteiligung statistisch gesicherte Mittelwertunterschiede für PYD ($p=0,001$), PYD fr ($p=0,002$), DPYD fr ($p=0,023$) und den Quotienten PYD/DPYD ($p=0,005$) (Tab. 3.14).

Die Werte der Gruppe mit Gelenkbeteiligung lagen dabei über denen ohne Gelenkbeteiligung. Vergleichbare Beobachtungen machten Toussiro et al. nur für DPYD fr, nicht aber für PYDfr [108]. Weitere Literaturangaben lassen sich nicht eruieren.

Da sich aber ein positiver Zusammenhang zwischen Entzündungsaktivität und peripherer Gelenkbeteiligung zeigen ließ (Tab. 3.22), könnte hierin eine Erklärung für unsere Ergebnisse liegen. Dies wird auch von Spoorenberg et al. vermutet [100].

Außerdem wird bei entzündlichen Gelenkbeteiligungen auch Knorpelgewebe verstärkt abgebaut und eine chronische Synovialitis unterhalten, was mit hoher Sicherheit den erhöhten PYD/DPYD-Quotienten erklärt.

Im zweiten Teil unserer Untersuchung verglichen wir die von uns ermittelten Crosslinkwerte im Urin mit denen anderer Patientengruppen bzw. einer Normalpopulation

Die Pyridinium Crosslinks des gesunden Erwachsenen zeigen einen umschriebenen Normbereich, der bei einer retrospektiven Literaturliteraturauswertung von Seibel et al. für PYD zwischen 15 und 35 nmol/mmol CREA und für DPYD zwischen 4 und 9 nmol/mmol CREA liegt. Der Quotient PYD/DPYD liegt dabei konstant im Bereich 3-4 [95]. Somit lagen die von uns zum Vergleich mit den Spa Patienten benutzten Daten des Normalkollektives des Forschungslabors Rheumatologie und Osteologie in der oberen Hälfte dieser Bereiche.

Im Vergleich zum Normalkollektiv zeigen unsere Spa Patienten bei allen untersuchten Parametern deutlich höhere Werte, mit Ausnahme des Quotienten PYD/DPYD fr waren diese Unterschiede auch signifikant (Tab. 3.16). Auffallend waren diese Unterschiede vor allem für die totalen Crosslinks PYD und etwas geringer für DPYD. Hier fanden sich etwa um die Hälfte höhere Werte im Vergleich zu den nicht erkrankten Personen, bei den freien Crosslinks

war der Unterschied geringer ausgeprägt, was die Aussagekraft der freien Crosslinks in dieser Frage einschränkt. Es ist bekannt, dass sie nicht in dem Maße auf kurzfristige Änderungen der Osteoklastenaktivität ansprechen, da sie aufgrund enzymatischer Freisetzung aus ihrer gebundenen Form einen konstanteren Ausscheidungsrythmus besitzen und dadurch keine starken Schwankungen zeigen [88].

Ähnliche Ergebnisse werden auch in anderen Studien beschrieben. So sahen Marhoffer et al. signifikant erhöhte Werte für PYD (51,2 versus 33,9 nmol/mmol CREA) bei hoher Entzündungsaktivität [64]. Yilmaz et al. beobachteten dies sowohl für PYD als auch DPYD, und unterlegen dies durch gleichzeitig erniedrigte Knochendichtewerte. Dabei lag der von ihnen bei Spa-Patienten gemessene Mittelwert für PYD (27,5 nmol/mmol CREA) deutlich unter dem von uns (47,71 nmol/mmol CREA) und sogar noch unter dem unseres Normalkollektives [117]. Hierzu ist zu sagen, dass bei ihren Probanden nur eine geringe Entzündungsaktivität vorlag (CRP im Mittel 8,5), die die niedrigen Werte für PYD erklären könnte. Auch methodische Differenzen sind zu vermuten.

Acebes et al. [1] betonen in diesem Zusammenhang in ihrer Studie über verschiedene Marker des Knochenmetabolismus die Bedeutung der Faktoren PYD, PYD fr und DPYD fr. Nach ihren Angaben eignen sie sich besonders, um zwischen Gesunden und an Spa Erkrankten zu differenzieren. Wir können dies für PYD in gebundener und freier Form ($p=0,001$) bestätigen. DPYD ermöglicht nur in gebundener Form ($p=0,006$) die Unterscheidung der beiden Gruppen.

Mitra et al. konnten dagegen keine Differenzen zwischen den in ihrem Spa Kollektiv ermittelten Werten und denen eines Normalkollektives nachweisen. Die von ihnen untersuchten Patienten befanden sich noch in einem frühen, kaum aktivem Stadium, was sich an insgesamt sehr niedrigen, an der unteren Grenze des Normalbereichs für Erwachsene liegenden Werten für PYD (15,66 nmol/mmol CREA), DPYD (4,9 nmol/mmol CREA) und den Quotienten PYD/DPYD (3,2) zeigt [69]. Sie vermuten deshalb, dass die von ihnen nachgewiesene Osteopenie nicht auf erhöhte Resorptionsvorgänge, sondern eher auf verminderte Knochenneubildung zurückzuführen ist.

Der stark erniedrigte Quotient könnte dabei ein Hinweis darauf sein, dass PYD eher in aktiven Krankheitsstadien deutlich gegenüber DPYD ansteigt, und dann Zeichen für eine Synovialitis sowie eine vermehrte Knorpeldegeneration ist.

Toussirot et al., die nur die freien Crosslinks PYD fr und DPYD fr untersuchten, konnten ebenfalls keinen Unterschied zu den Werten bei Normalkollektiven feststellen [108]. Dazu ist

aber zu sagen, dass die Differenzen bei den freien Crosslinks auf Grund des konstanten Ausscheidungsrythmus meist nicht sehr stark ausgeprägt sind, und auch bei uns die Unterschiede gering waren.

Zusammenfassend lässt sich aufgrund unserer Daten und der Mehrzahl der Literaturangaben schlussfolgern, dass die Crosslinkausscheidung und hier vor allem die der totalen Crosslinks besonders in aktiven Krankheitsstadien der Spa gegenüber der Normalbevölkerung signifikant erhöht ist und somit als Abbaumarker von Knochen (besonders DPYD) bzw. Knorpel (besonders PYD bzw. PYD/DPYD- Quotient) auch bei Spa brauchbar ist.

Wie bereits erwähnt, spielt auch bei anderen Erkrankungen die Bestimmung der Kollagen-Crosslinks eine große Rolle. So wird in zahlreichen Studien von erhöhten Werten bei RA-Patienten [5, 78, 99] berichtet. Dabei zeigten sich bei RA besonders für das vor allem bei der Knorpeldegeneration im Rahmen entzündlicher Gelenkveränderungen freigesetzte PYD stark erhöhte Werte, wohingegen dies für den knochenspezifischen Parameter DPYD weniger auffällig war [56, 99].

Die uns zur Verfügung stehenden Daten des RA-Kollektives des Forschungslabors Rheumatologie und Osteologie lagen im Mittel unter denen in anderen Studien ermittelten Werten [12, 94]. Alle Parameter der RA-Patienten überstiegen aber im Gruppenmittel diejenigen der Spa-Patienten. Mit Ausnahme des Quotienten PYD/DPYD war dies statistisch zu sichern (Tab. 3.18). Vor allem für PYD und PYD fr zeigten sich deutlich erhöhte Werte in der RA-Gruppe. Da PYD und PYD fr auch von Knorpelabbauvorgängen bzw. aus entzündetem Synovialgewebe stammen, bestätigt sich hiermit, dass bei der RA vor allem die Knorpeldestruktion und Synovialitis im Vordergrund steht.

Um einen aus Alter und Geschlecht resultierenden verfälschenden Effekt auszuschließen, haben wir die CL Werte noch einmal getrennt nach Geschlecht und für die Altersgruppen ≤ 50 - und > 50 Jahre untersucht. Die bereits beschriebene Tendenz mit erhöhten Werten in der RA-Gruppe bestätigte sich dabei (Tab. 3.19-24).

Bei Osteoporosepatienten werden die Kollagencrosslinks im Rahmen der Früherkennung osteoporotischer Veränderungen erwähnt. Hier dienen sie der Einschätzung drohender Knochenverluste bzw. zur Beurteilung der Prozessaktivität und der Kontrolle des Therapieerfolges [66, 96]. Im Unterschied zur RA ist bei dieser Krankheit aber vor allem DPYD als Zeichen verstärkter Knochenresorption erhöht und relativ geringer PYD [24, 54,

79]. So zeigte sich bei Frauen in der Menopause ein deutlicher Zusammenhang nur zwischen DPYD und Knochendichteabnahme, nicht aber für PYD [35]. Es wird jedoch auch trotz verminderter Knochendichte von unveränderten Crosslinkspiegeln berichtet [102].

Beim Vergleich unserer Spa-Daten mit denen einer Osteoporosegruppe des Forschungslabors Rheumatologie und Osteologie konnten wir feststellen, dass bis auf den Quotienten PYD/DPYD alle Parameter über denen der Spa-Gruppe und damit auch über denen unseres Normalkollektives lagen (Tab. 3.18). Dieses Ergebnis weist somit auf einen insgesamt gegenüber Spa-Patienten verstärkten Kollagenkatabolismus hin, wobei der relativ niedrigere Quotient PYD/DPYD ($p=0,000$) das Überwiegen des Knochenkollagenabbaus im Rahmen der OP unterstreicht.

Auch hier untersuchten wir die CL Werte noch einmal getrennt nach Geschlecht und für die Altersgruppe \leq und > 50 Jahre, um einen verzerrenden Effekt auszuschließen. Es bestätigten sich die gefundenen Ergebnisse mit deutlich niedrigerem Quotienten PYD/DPYD in der OP Gruppe, als Hinweis auf ein Überwiegen des Knochenkatabolismus (Tab. 3.19-24).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Spa im Gegensatz zu den beiden gegenübergestellten Krankheitsbildern einen nur gering gesteigerten Knochenkatabolismus verglichen mit Normalpersonen zeigt.

Besonders die RA fällt durch deutlich erhöhte Crosslinkwerte gegenüber der Spa auf. Eine Erklärung könnte darin liegen, dass im Rahmen der RA wesentlich stärker ausgebildete entzündliche und destruierende Prozesse vorliegen, die eine vermehrte Knochen- und besonders Knorpeldegradation bedingen.

Bei der Osteoporose dürften dagegen die im Rahmen der Menopause auftretenden hormonellen Veränderungen, bzw. im hohen Alter der Vit. D-Mangel, bzw. der relative 1α -Hydroxylase Mangel in weit stärkerem Maße Einfluss auf den Knochenstoffwechsel haben.

Schlussbemerkungen

Ziel der Untersuchung war es, die Ausscheidung der Kollagencrosslinks im Verhältnis zu verschiedenen klinischen Parametern und Patientenkollektiven zu betrachten.

Hier zeigte sich, dass die Spa durch gegenüber der Normalbevölkerung deutlich erhöhte CL Werte auffällt, und eine sichtbare Beeinträchtigung des Knochenmetabolismus vorliegt.

Die Ursache dieses verstärkten Knochenabbaus ist multifaktoriell und überwiegend durch die im Rahmen der Erkrankung auftretenden entzündlichen Veränderungen bedingt. In unserer Untersuchung fiel ein deutlicher Zusammenhang zwischen erhöhter entzündlicher Aktivität und vermehrter Kollagen CL-Ausscheidung auf. Diese in der Literatur mehrfach beschriebene Beziehung erklärt sich durch die im Rahmen der Entzündung verstärkt ablaufenden resorptiven Prozesse [64, 114].

Der beobachtete Zusammenhang legt die Aussage nah, dass es grundsätzlich Sinn macht, frühzeitig auf diesen Entzündungsprozess Einfluss zu nehmen, um somit auch ein Fortschreiten der Osteoporose wirksam zu begrenzen.

Ein wichtiger Baustein ist dabei neben der Krankengymnastik die medikamentöse Therapie. Es zeigte sich bei Betrachtung der Crosslinkausscheidung, dass eine regelmäßige NSAR-Einnahme einen deutlichen Nutzen hat und eine erhöhte CL Ausscheidung reduziert. Die Ursache liegt offenbar in der Herabsetzung erhöhter Prostaglandinspiegel, da diese eine Osteoklastenaktivierung und in deren Folge vermehrte Knochenresorption bedingen [4, 72]. Der weitere Wert der NSAR liegt in der Schmerzreduktion und der dadurch besseren Beweglichkeit der Patienten [29], womit das zusätzliche Risiko der Entwicklung einer Inaktivitätsosteopenie verringert wird [50]. Dieser Zusammenhang wird bei Betrachtung der Mobilität deutlich. So konnten wir bei reduzierter Bewegungsfunktion eine tendenziell ansteigende Crosslinkausscheidung ermitteln. Letzteres unterstreicht die Notwendigkeit der frühzeitigen Übungsbehandlung. Inwieweit subjektive Faktoren, wie Tagesverfassung und Compliance des Untersuchten hier verfälschend Einfluss haben, ist unsicher. Es ist aber bekannt, dass Phasen hoher entzündlicher Aktivität die Beweglichkeit erheblich vermindern können [89]. Neben den Schmerzen spielt hier mit Sicherheit auch die zunehmende Einsteifung der Wirbelsäule eine Rolle, die sich bei uns durch vermehrte resorptive Prozesse im Stadium fortgeschrittener radiologischer Veränderungen zeigte. Diese zentrale Osteopenie des Wirbelkörpers bei peripherer Verknöcherung begünstigt die im Rahmen der Spa mit erhöhter Wahrscheinlichkeit auftretenden Wirbelkörperfrakturen [20, 82].

In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, ob es sinnvoll ist, eine eventuelle Frakturgefährdung mit Hilfe von CL Messungen rechtzeitig zu erkennen. Der Vorteil liegt dabei darin, dass diese im Gegensatz zu Knochendichtemessungen umgehend Veränderungen des Knochenmetabolismus anzeigen bzw. aktuelle Degradationsaktivitäten eher widerspiegeln [18], so dass eine therapeutische Intervention früher möglich wäre.

Diese könnte dabei in einem prophylaktischen Einsatz antiresorptiver Medikamente bestehen. So wiesen Cantatore et al. nach, dass es unter Therapie mit Alendronat sowohl zu einem Abfall der Entzündungsparameter, als auch der Crosslinkausscheidung kommt [17].

Ähnliche Ergebnisse wurden bei Einsatz von Vitamin D Metaboliten gefunden [49]. Somit wäre eine Reduktion des osteokatabolen Prozesses vorstellbar.

Völlig neue Dimensionen eröffnen möglicherweise Therapien mit Hemmprinzipien gegen TNF α oder/ und IL-1. Einflüsse auf Entzündungs- und Bewegungsfunktion bei Spa sind bereits mit Signifikanz gemessen worden [59]. Daten zum Einfluß auf den Knochenstoffwechsel stehen noch aus.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Untersuchung wurde bei 91 Spa-Patienten der Rheumatologischen Fachambulanz der Friedrich-Schiller-Universität Jena die Crosslinkausscheidung im Urin als Parameter für eine aktuelle Kollagendegeneration (Knochen oder Knorpel) ermittelt und versucht, Einflussfaktoren auf den Knochenmetabolismus bei Spa näher einzugrenzen. Ziel war es, eine Aussage darüber zu machen, inwieweit die Wirkung der einzelnen Parameter gewichtet werden kann. Von besonderem Interesse war, ob sich letztlich dominierende Ursachen darstellen lassen, die somit Gesichtspunkte im Hinblick auf die Therapie der Erkrankung ergeben. Weiterhin interessierte uns, ob die Situation des Knochenmetabolismus different von der anderer Kollektive ist, und ob sich daraus neue Erkenntnisse ableiten lassen. Die Messung der Kollagencrosslinks erfolgte dabei mit der in unserem Labor etablierten Methode der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC).

Zusammenfassend kamen wir zu folgenden Ergebnissen:

Die Crosslinkausscheidung ist bei Spa-Patienten im Mittel signifikant erhöht gegenüber Normalkontrollen. Dabei ist offensichtlich vor allem die Messung der totalen Crosslinks geeignet, Veränderungen im Knochenstoffwechsel bei Spa zu erfassen. Die freien Crosslinks sind hier eher unsensibel.

Der Vergleich mit den RA- bzw. Osteoporose-Patienten ergab, dass die Spa einen weniger stark ausgeprägten Knochenkatabolismus aufweist. Die höchste CL-Ausscheidung zeigte dabei die RA.

Entzündliche Prozesse haben auch bei der Spa einen ausgeprägten Einfluss auf den Kollagenabbau, wie sich anhand signifikant erhöhter Crosslinkspiegel im Urin bei aktivem Krankheitsstadium zeigen ließ.

Die Krankheitsdauer ergab dagegen keinen Zusammenhang zu aktuellen Knochenumbauvorgängen.

Die Bewegungsmaße Schober und Finger-Boden-Abstand, bzw. die radiologischen Veränderungen lassen eine gewisse Tendenz dahingehend erkennen, dass bei fortschreitender Bewegungseinschränkung und zunehmendem röntgenologischem Schweregrad ein Anstieg der Crosslinkausscheidung erfolgt. Hier ist die Ursache zum einen in Inaktivitätsatrophien zu

sehen, bei der Bewegungseinschränkung spielt darüberhinaus eine durch den entzündlichen Prozess verursachte Schmerzkomponente eine Rolle.

Bei Einsatz von NSAR ließ sich eine niedrigere Crosslinkfreisetzung nachweisen, die ursächlich in der Reduktion entzündlicher Vorgänge und der schmerzbedingten Bewegungseinschränkung zu sehen ist.

Bei Betrachtung aller Ergebnisse kamen wir zu der Schlussfolgerung, dass sowohl der Entzündungsreaktion, als auch einer zunehmenden Inaktivitätsatrophie eine Rolle bei der Genese osteokataboler Veränderungen im Rahmen der Spa zukommt. Somit muss es das Ziel sein, frühzeitig therapeutisch auf diese beiden Faktoren einzuwirken.

Das Ausmaß des mittels CL-Ausscheidung gemessenen Kollagenabbauprozesses ist bei der Spa gegenüber der RA geringer. Bei der RA sind offenbar zusätzliche Kollagen II-Abbauprozesse involviert, die sich in geringerer Ausprägung auch bei der peripheren Gelenkbeteiligung der Spa sichern lassen. Eine Vergleichsgruppe von Osteoporosepatienten zeigt hingegen im Mittel eine stärkere Kollagen I-Abbauaktivität (Knochen) als die Spa.

6. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

BSG	Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
CL	Crosslinks
CRP	C-reaktives Protein
DPYD	Desoxypyridinolin
DPYD fr	freies Desoxypyridinolin
HPLC	High Performance Liquid Chromatography- Hochdruckflüssigkeitschromatographie
NK	Normalkontrollen
NSAR	Nicht-steroidale Antirheumatika
OP	Osteoporose
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PYD	Pyridinolin
PYD fr	freies Pyridinolin
r	Korrelationskoeffizient
RA	rheumatoide Arthritis
Spa	Spondylitis ankylosans
SRKK	SPEARMANSCHER Rangkorrelationskoeffizient

7. **LITERATURVERZEICHNIS**

1. Acebes C.; De la Piedra C.; Traba M.L. et al.:
Biochemical markers of bone remodeling and bone sialoprotein in ankylosing spondylitis.
Clin Chim Acta 1999; 289: 99-110
2. Anderson J.J.; Baron G.; van der Heijde D. et al.:
Ankylosing spondylitis assessment group preliminary definition of short-term improvement in ankylosing spondylitis.
Arthritis Rheum 2001; 44: 1728-9
3. Aoshima H.; Kushida K.; Takajashi M. et al.:
Circadian variation of urinary type I collagen crosslinked C-Telopeptid and free and peptide-bound forms of pyridinium crosslinks.
Bone 1998; 22: 73-8
4. Aota S.; Nakamura T.; Suzuki K. et al.:
Effects of indometacin administration on bone turnover and bone mass in adjuvant-induced arthritis in rats.
Calcif Tissue Int 1996; 59: 385-91
5. Astbury C.; Bird H.A.; Mc Laren A.M. et al.:
Urinary excretion of pyridinium crosslinks of collagen correlated with joint damage in arthritis.
Br J Rheumatol 1994; 33: 11-5
6. Barber M.; Bordoli R.S.; Elliott G.J. et al.:
The structure of pyridinoline.
Biochem and Biophys Res Commun 1982; 109: 1041-6

7. Bauer D.C.; Orwoll E.S.; Fox K.M. et al.:
Aspirin and NSAID in use in older women: effect on bone mineral density and fracture risk.
J Bone Miner Res 1996; 11: 29-35
8. Beardsworth L.J.; Eyre D.R.; Dickson I.R.:
Changes with age in the excretion of lysyl- and hydroxylslypyridinoline: two new markers of bone collagen turnover.
J Bone Miner Res 1990; 5: 671-6
9. Behre A.; Janott J.; Pfohl M. et al.:
Clinical value of urinary pyridinium crosslinks as osteoporosis markers: evaluation of a population survey of vertebral osteoporosis.
Med Klin 2001; 96: 378-82
10. Bjellerup P.:
Standardization of HPLC measurements of pyridinium crosslinks.
Scand J Clin Lab Invest Suppl. 1997; 227: 80-3.
11. Black D.; Duncan A.; Robins S.P.:
Quantitativ analysis of the pyridinium crosslinks of collagen in urine using ion-paired reversed-phase high performance liquid chromatography.
Anal Biochem 1988; 169: 197-203
12. Black D.; Marabani M.; Sturrock R. et al.:
Urinary excretion of the hydroxypyridinium crosslinks of collagen in patients with rheumatoid arthritis
Ann Rheum Dis 1989; 48: 641-4
13. Braun J.; Sieper J.; Bollow M.:
Imaging of sacroiliitis.
Clin Rheumatol 2000; 19: 51-7

14. Bronson B.D.; Walker S.E.; Hillman L.S. et al.:
Bone mineral density and biochemical markers of bone metabolism in ankylosing spondylitis.
J Rheumatol 1998; 25: 929-35
15. Brown M.; Wordsworth P.:
Predisposing factors to spondylarthropathies.
Curr Opin in Rheumat 1997; 9: 308-14
16. Calabresi E.; Lasagni L.; Franceschelli F. et al.:
Comparison of immuno- and HPLC-assays for the measurement of urinary collagen cross-links.
J Endocrinol Invest 1994; 17: 625-9
17. Cantatore F.P.; Acquista C.A.; Pipitone V.:
Evaluation of bone turnover and osteoclastic cytokines in early rheumatoid arthritis.
J Rheumatol 1999; 26: 2318-23
18. Christenson R.H.:
Biochemical markers of bone metabolism
Clin Biochem 1997; 30: 573-93
19. Colwell A.; Russell R.G.; Eastell R.:
Factors affecting the assay of urinary 3 hydroxy pyridinium crosslinks of collagen as markers of bone resorption.
Eur J Clin Invest 1993; 23: 341-9
20. Cooper C.; Carbone L.; Michet C.J. et al.:
Fracture risk in patients with ankylosing spondylitis: a population based study.
J Rheumatol 1994; 21: 177-82
21. Cowling P.; Ebringer R.; Cawdell I. et al.:
C- reactive protein, ESR, and Klebsiella in ankylosing spondylitis.
Ann Rheum Dis 1980; 39: 45-9

22. Dalyan M.; Güner A.; Tuncer S. et al.:
Disability in ankylosing spondylitis.
Disabil and Rehabil 1999; 21: 74-9

23. Danza G.
Use of an international standard to measure pyridinoline and deoxypyridinoline in urine.
Clin Chem 1994; 40: 336

24. De la Piedra C.; Traba M.L.; Dominguez Cabrera C. et al.:
New biochemical markers of bone resorption in the study of postmenopausal osteoporosis.
Clin Chim Acta 1997; 265: 225-34

25. Devogelaer J.P.; Maldague B.; Malghem J. et al.:
Appendicular and vertebral bone mass in ankylosing spondylitis.
Arthr Rheum 1992: 35

26. Dihlmann W.:
Current radiodiagnostic concept of ankylosing spondylitis.
Skeletal Radiol 1979; 4: 179-88

27. Dolan A.L.; Moniz C.; Dasgupta B. et al.:
Effects of inflammation and treatment on bone turnover and bone mass in polymyalgia rheumatica.
Arthr Rheum 1997; 40: 2022-9

28. Donnelly S.; Doyle D.V.; Denton A. et al.:
Bone mineral density and vertebral compression fracture rates in ankylosing spondylitis.
Ann Rheum Dis 1994; 53: 117-21

29. Dougados M.; Behier J.; Jolchine I. et al.:
Celecoxib, a cox-2 specific inhibitor in ankylosing spondylitis: a 6 week efficacy study.
Arthr Rheum 2001; 44: 180-5

30. Dougados M.; Gueguen A.; Nakache J.P. et al.:
Clinical relevance of C-reactive protein in axial involvement of ankylosing spondylitis.
J Rheumatol 1999; 26: 971-4

31. El Maghraoui A.; Borderie D.; Cherruau B. et al.:
Osteoporosis, body composition and bone turnover in ankylosing spondylitis.
J Rheumatol 1999; 26: 2205-9

32. Eyre D.R.; Koob T.J.; Van Nees K.P.:
Quantitation of hydroxypyridinium crosslinks in collagen by high performance liquid chromatography.
Anal Biochem 1984; 137: 380-8

33. Eyre D.R.; Wu J.J.; Woods P.E.:
The cartilage collagens: Structural and metabolics studies.
J Rheumatol 1991; 18: 49-51

34. Falkenbach A.; Curda B.:
Symptoms, Effects on Quality of Life, Judgement and Expectations of Treatment in Active Ankylosing Spondylitis: The Patient's View.
Rehabil 2001; 40: 275-9

35. Fledelius C.; Riis B.J.; Overgaard K.:
The diagnostic validity of urinary free pyridinolines to identify women at risk of osteoporosis.
Calcif Tissue Int 1994; 54: 381-4

36. Franck H.; Keck E.:
Serum osteocalcin and vitamin D metabolites in patients with ankylosing spondylitis.
Ann Rheum Dis 1993; 52: 343-6

37. Fujimoto D.; Moriguchi T.; Ishida T. et al.:
The structure of pyridinoline, a collagen crosslink.
Biochem and Biophys Res Commun 1978; 84: 52-7

38. Garnero P.; Delmas P.D.:
Biochemical markers of bone turnover: clinical usefulness in osteoporosis.
Ann Biol Clin 1999; 57: 137-48

39. Gierse H.; Eisebitt R.; Bernard I.:
Prevention of periarticular ossification- with results of a randomized double blind study
comparing acemetacin versus indometacin.
Z Orthop Ihre Grenzgeb 1997; 135: 417-21

40. Ginty F.; Flynn A.; Cashman K.:
Inter and intra-individual variations in urinary excretion of pyridinium crosslinks of
collagen in healthy young adults.
Eur J Clin Nutr 1998; 52: 71-3

41. Gough A.; Peel N.; Eastell R. et al.:
Excretion of pyridinium crosslinks correlates with disease activity and appendicular
bone loss in early rheumatoid arthritis.
Ann Rheum Dis 1994; 53: 14-7

42. Gräfenstein, K.:
In: Rheumatologie Diagnostik - Klinik - Behandlung.
ecomed Fachverlag Landsberg/ Lech 1992: 9-17

43. Gran J.T.; Skomsvoll J.F.:
The outcome of ankylosing spondylitis.
Br J Rheumatol 1997; 36: 766-71

44. Gratacos J.; Collado A.; Pons F. et al.:
Significant loss of bone mass in patients with early active ankylosing spondylitis: a follow up study.
Arthr Rheum 1999; 42: 2319-24
45. Hanson J.A.; Mirza S.:
Predisposition for spinal fracture in ankylosing spondylitis.
Am J Roentgenol 2000; 174: 150
46. Hanson C.A.; Shagrin J.W.; Duncan H.:
Vertebral osteoporosis in ankylosing spondylitis.
Clin Orthop 1971; 74:5 9-64
47. Hein G.; Franke S.; Mueller A.; Braunig E.; Eidner T.; Stein G.:
The determination of pyridinium crosslinks in urine and serum as a possible marker of cartilage degradation in rheumatoid arthritis.
Clin Rheumatol 1997; 16: 167-72
48. Hein G.; Müller A.; Franke S. et al.:
Untersuchungen zur Korrelation der Pyridinium Crosslinks bei der Rheumatoiden Arthritis.
Akt Rheumatol 1995; 20: 140-4
49. Hein G.; Oelzner P.:
Vitamin D metabolites in rheumatoid arthritis: findings-hypotheses-consequences.
Z Rheumatol 2000; 59: 28-32
50. Hettenkofer H.J.:
Entzündliche rheumatische Erkrankungen
In: Rheumatologie Diagnostik – Klinik – Therapie.
Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York 1998: 72-7

51. Jiang Y.; Zhao J.; Genant H.K. et al.:
Bone mineral density and biochemical properties of spine and femur of ovariectomized rats treated with naproxen.
Bone 1998; 22: 509-14

52. Jones D. W.; Mansell M.A.; Samuelli C.T. et al.:
Renal abnormalities in ankylosing spondylitis.
Br J Rheumatol 1987; 26: 341-5

53. Kennedy L.G.; Edmunds L.; Calin A.:
The natural history of ankylosing spondylitis. Does it burn out?
J Rheumatol 1993; 20: 688-92

54. Kenny A.M.; Gallagher J.C.; Prestwood K.M. et al.:
Bone density, bone turnover and hormone levels in men over age 75.
J Gerontol A Biol Sci Med Sci 1998; 53: 419-25

55. Knott L.; Bailey A.J.:
Collagen crosslinks in mineralizing tissues: A review of their chemistry, function and clinical relevance.
Bone 1998; 22: 181-7

56. Kollerup G.; Hansen M.; Horslev-Petersen K.:
Urinary hydroxypyridinium crosslinks of collagen in rheumatoid arthritis. Relation to disease activity and effects of methylprednisolone.
Br J Rheumatol 1994; 33: 816-20

57. Kollerup G.; Thamsborg G.; Bhatia H. et al.:
Quantitation of urinary hydroxypyridinium cross-links from collagen by high-performance liquid chromatography.
Scand J Clin Lab Invest 1992; 52: 657-62

58. Lane N.; Coble T.; Kimmel D.B.:
Effect of naproxen on cancellous bone in ovariectomized rats.
J Bone Miner Res 1990; 5: 1029

59. Lange U.; Teichmann J.; Stracke H.:
Correlation between plasma TNF- α , IGF-1, biochemical
markers of bone metabolism, markers of inflammation/disease activity, and clinical
manifestations in ankylosing spondylitis.
Eur J Med Res 2000; 5: 507-11

60. Lems W.F.; Gerrits M.I.; Jacobs J.W. et al.:
Changes in bone metabolism during high dose corticosteroid pulse treatment in
patients with rheumatoid arthritis.
Ann Rheum Dis 1996; 55: 288-93

61. MacDonald A.G.; Birkinshaw G.; Durham B. et al.:
Biochemical markers of bone turnover in seronegative spondylarthropathy:
relationship to disease activity.
Br J Rheumatol 1997; 36: 50-3

62. Maillefer J.F.,; Aho L.S.; El Maghraoui A. et al.:
Changes in bone density in patients with ankylosing spondylitis: a two-year follow-up
study.
Osteoporos Int 2001; 12: 605-9

63. Manicourt D.H.; Poilvache P.; Van Egeren A. et al.:
Synovial fluid levels of tumor necrosis factor alpha and oncostatin M correlate with
levels of markers of the degradation of crosslinked collagen and cartilage aggrecan in
rheumatoid arthritis but not in osteoarthritis.
Arthr Rheum 2000; 4: 281-8

64. Marhoffer W.; Stracke H.; Masoud I. et al.:
Evidence of impaired cartilage/bone turnover in patients with active ankylosing spondylitis.
Ann Rheum Dis 1995; 54: 556-9

65. Mau W.; Zeidler H.:
Spondylitis ankylosans
In: Rheumatologie, Zeidler H.(Hrsg.)
Urban u. Schwarzenberg München 1989: 394-409

66. McLaren A.M.; Hordon L.D; Bird H.A. et al.:
Urinary excretion of pyridinium crosslinks of collagen in patients with osteoporosis and the effect of bone fracture.
Ann Rheum Dis 1992; 51: 648-51

67. McLaren A.M.; Isdale A.H.; Whittings P.H. et al.:
Physiological variations in the urinary excretion of pyridinium crosslinks of collagen.
Br J Rheumatol 1993; 32: 307-12

68. Meirelles E.S.; Borelli A.; Camargo O.P.:
Influence of disease activity and chronicity on ankylosing spondylitis bone mass loss.
Clin Rheumatol 1999; 18: 364-8

69. Mitra D.; Elvins D.M.; Collins A.J.:
Biochemical markers of bone metabolism in mild ankylosing spondylitis and their relationship with bone mineral density and vertebral fracture.
J Rheumatol 1999; 26: 2201-4

70. Mohr W.:
Morphologie der ankylosierenden Spondylitis.
Akt Rheumatol 1982; 7: 70-78

71. Moll J.M.H.; Wright V.:
New york clinical criteria for ankylosing spondylitis
Ann Rheum Dis 1973; 32: 354-63

72. Morton D.J.; Barrett-Connor E.L.; Schneider D.L.:
Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and bone mineral density in older women.
J Bone Miner Res 1998; 13: 1924-31

73. Müller A.; Stein G.; Lehmann G.; Hein G.:
Investigations of bone turnover in renal osteopathy.
Eur J Med Res 1999; 4: 78-84

74. Murakami N.; Takase H.; Saito T. et al.:
Effects of a novel non- steroidal anti-inflammatory drug on bone metabolism in rats
with collagen-induced arthritis.
Eur J Pharmacol 1998; 352: 81-90

75. Nashel D.J.; Petrone D.L.; Ulmer C.C. et al.:
C-reactive protein: a marker for disease activity in ankylosing spondylitis and Reiter's
syndrome.
J Rheumatol 1986; 13: 364-7

76. Niethard F.U.; Pfeil J.:
Knochenerkrankungen – Osteoporose
In: Orthopädie
Hippokrates Verlag GmbH Stuttgart 1997: 165-6

77. Oelzner P.; Franke S.; Mueller A.; Hein G.; Stein G.:
Relationship between soluble markers of immune activation and bone turnover in post-
menopausale women with rheumatoid arthritis.
Rheumatology 1999; 38: 841-7

78. Oelzner P.; Mueller A.; Deschner F. et al.:
Relationship between disease activity and serum levels of vitamin D metabolites and PTH in rheumatoid arthritis.
Calcif Tissue Int 1998; 62: 193-8

79. Parviainen M.T.; Jaaskelainen K.; Kroger H. et al.:
Urinary bone resorption markers in monitoring treatment of symptomatic osteoporosis.
Clin Chim Acta 1999; 279: 145-54

80. Patton J.T.
Differential diagnosis of inflammatory spondylitis.
Skeletal Radiol. 1976; 1: 77-85

81. Rahali-Khachlouf H.; Poiraudreau S.; Fermanian J. et al.:
Validity and reliability of the clinical measures in ankylosing spondylitis.
Ann Readapt Med Phys 2001; 44: 205-12

82. Ralston S.H.; Urquhart G.D.K.; Brzeski M. et al.:
Prevalence of vertebral compression fractures due to osteoporosis in ankylosing spondylitis.
Br Med J 1990; 300: 563-5

83. Reginster J.Y.; Paul I.; Henrotin Y.:
What is the role of aceclofenac in the therapeutic arsenal against chronic osteoarthritis pathologies?
Rev Med Liege 2001; 56: 484-8

84. Robins S.P.:
An enzyme-linked immunoassay for the collagen cross-link pyridinoline.
Biochem J 1982; 207: 617-20

85. Robins S.P.:
Crosslinking of collagen: isolation, structural characterization and glykosylation of pyridinoline.
Biochem J 1983; 215: 167-73

86. Robins S.P.; Duncan A.; Riggs B.L.:
Direct measurement of free hydroxy- pyridinium crosslinks of collagen in urin as new markers of bone resorption in osteoporosis.
Osteopress; Copenhagen 1990: 465-8

87. Robins S.P.; Seibel M.J.; McLaren A.:
Collagen markers in urin in human arthritis.
Academic Press; Methods in Cartilage research, London: 348-352

88. Rubinacci A.; Melzi R.; Zampino M. et al.:
Total and free desoxypyridinoline after acute osteoclast activity inhibition.
Clin Chem 1999; 45: 1510-6

89. Ruof J.; Stucki G.:
Validity aspects of erythrocyte sedimentation rate and C- reactive protein in ankylosing spondylitis: a literature review.
J Rheumatol 1999; 26: 966-70

90. Schilling F.:
Die Spondylitis ankylosans
Immun Infekt 1981; 9: 189-203

91. Schlemmer A.; Hassager C.; Pedersen B. et al.:
Posture, age, menopause, and Osteopenia do not influence the circadian variation in the urinary excretion of pyridinium crosslinks.
J Bone Miner Res 1994; 9: 1883-8

92. Seibel M.J.:
Komponenten der extrazellulären Gewebematrix als potentielle „Marker“ des Bindegewebs-, Knorpel- und Knochenmetabolismus bei Erkrankungen des Bewegungsapparates.
Z Rheumatol 1989; 48: 6-18

93. Seibel M.J.:
Hydroxy-Pyridinium „Crosslinks“ im Urin als spezifische Marker der Knochenresorption bei metabolischen Knochenerkrankungen.
Klin Lab 1992; 38: 642-3

94. Seibel M.J.; Duncan A.; Robins S.:
Urinary hydroxy-pyridinium crosslinks provide indices of cartilage and bone involvement in arthritic diseases.
J Rheumatol 1989; 16: 964-70

95. Seibel M.J.; Robins S.P.; Bilezikian J.P.:
Urinary pyridinium crosslinks of collagen.
Trends Endocrinol Metab 1992; 3: 263-70

96. Seibel M.J.; Woitge H.W.:
Basic principles and clinical applications of biochemical markers of bone metabolism: biochemical and technical aspects.
J Clin Densitom 1999; 2: 299-321

97. Shintaro K.; Kazujiro K.; Masaaki T.:
Estimation of the effects of prednisolone on bone metabolism in rats by biochemical markers.
Abstract Volume 16 Issue 3 1998: 162-9

98. Sivri A.; Kilinc S.; Kutsal Y.:
Bone mineral density in ankylosing spondylitis.
Clin Rheumatol 1996; 15: 51-4

99. Spector T.D.; James I.T.; Hall G.M. et al.:
Increased levels of urinary collagen crosslinks in females with rheumatoid arthritis.
Clin Rheumatol 1993; 12: 240-4

100. Spoorenberg A.; van der Heijde D.; de Klerk E. et al.:
Relative value of erythrocyte sedimentation rate and C- reactive protein in assessment
of disease activity in ankylosing spondylitis.
J Rheumatol 1999; 26: 980-4

101. Steidl, I.:
Sozialmedizin
In: Ökologisches Stoffgebiet, Kurzlehrbuch zum Gegenstandskatalog, Heilmann A.,
Steidl I.(Hrsg.)
Jungjohann Verlagsgesellschaft 1992: 135-6.

102. Stewart A.; Black A.; Robins S.P. et al.:
Bone density and bone turnover in patients with osteoarthritis and osteoporosis.
J Rheumatol 1999; 26: 622-6

103. Szejnfeld V.L.; Monier- Faugere M.C.; Bogner B.J. et al.:
Systemic osteopenia and mineralization defect in patients with ankylosing spondylitis.
J Rheumatol 1997; 24: 683-8

104. Takahashi M.; Kushida K.; Hoshino H. et al.:
Concentration of pyridinoline and deoxypyridinoline in joint tissues from patients with
osteoarthritis or rheumatoid arthritis.
Ann Rheum Dis 1996; 55: 324-7

105. Takahashi M.; Suzuki M.; Naitou K. et al.:
Comparison of free and peptid-bound pyridinoline cross-links excretion in rheumatoid
arthritis and osteoarthritis.
Rheumatology 1999; 38: 133-8

106. Toussirot E.; Michel F.; Wendling D.:
Bone density, ultrasound measurements and body composition in early ankylosing spondylitis.
Rheumatology 2001; 40: 882-8
107. Toussirot E.; Nguyen N.U.; Dumoulin G. et al.:
Insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3 serum levels in ankylosing spondylitis.
Br J Rheumatol 1998; 37: 1172-6
108. Toussirot E.; Ricard-Blum S.; Dumoulin G. et al.:
Relationship between urinary pyridinium crosslink, disease activity and disease subsets of ankylosing spondylitis.
Rheumatology 1999; 38: 21-7
109. Tsukahara H.; Miura M.; Hori C. et al.:
Urinary excretion of pyridinium crosslinks of collagen in infancy.
Metabolism 1996; 45: 510-4
110. Uebelhardt D.; Gineyts E.; Chapuy M.C. et al.:
Urinary excretion of pyridinium crosslinks: a new marker of bone resorption in metabolic bone disease.
J Bone Min 1990; 8: 87-96
111. Uebelhart D.; Schlemmer A.; Johansen J.S. et al.:
Effect of menopause and hormone replacement therapy on the urinary excretion of pyridinium crosslinks.
J Clin Endocrinol Metab 1991; 72: 367-73
112. Walne A.J.; Jenkins P.J.; James I.T. et al.:
Pyridinium crosslinks in the monitoring of patients with bone metastases from carcinoma of the breast.
Clin Oncol 1997; 9: 30-4

113. Weithmann K.U.; Schlotte V.; Jeske V. et al.:
Effects of tiaprofenic acid on urinary pyridinium crosslinks in adjuvant arthritic rats.
Inflamm Res 1997; 46: 346-52
114. Will R.; Palmer R.; Ring F. et al.:
Osteoporosis in early ankylosing spondylitis.
Lancet 1989; 2: 1483-5
115. Woolf A. D.:
Osteoporosis in rheumatoid arthritis—the clinical viewpoint.
Br J Rheumatol 1992; 30: 82
116. Xuereb Anastasi A.; Buhagiar A.; Camilleri F. et al.:
Pyridinium crosslinks excretion in patients with rheumatoid arthritis. Correlation with
disease activity and glucocorticoid treatment.
Adv Exp Med Biol 1999; 455: 227-33
117. Yilmaz N.; Özaslan J.:
Biochemical turnover markers in patients with ankylosing spondylitis.
Clin Rheumatol 2000; 19: 92-8

DANKSAGUNG

Abschliessend möchte ich folgenden Personen danken, die mich bei der Fertigstellung dieser Arbeit unterstützten:

Meinem Doktorvater Prof. Dr. med. G. Hein, der mir dieses Thema überließ und der mich während der gesamten Promotionszeit hervorragend betreute. Trotz des Klinikalltags hatte er immer Zeit für ein hilfreiches, anregendes Gespräch und zur umgehenden Korrektur meiner Arbeit.

Dr. A. Müller, der mich bei der Messung der Crosslinks tatkräftig unterstützte und mir auch bei der folgenden Auswertung der Daten und Fertigstellung der Arbeit geholfen hat.

A.Schubert, von der ich die Vorbereitung der Proben erlernte und die mir bei der Laborarbeit immer hilfreich zur Seite stand.

K. Scheibe, die mich jederzeit unterstützte, wenn ich Prof. Hein wegen der Promotion kontaktierte.

Peter Charbel-Issa, Anja Noltemeyer und Anne Perko die sich die Mühe machten meine Promotion zu lesen und mich auf manche Fehler und Unverständlichkeiten hinwiesen.

Meinen langjährigen Mitbewohnern Niels Menck und Lars Zeggel, die mir während mancher Dursstrecken immer wieder beistanden.

Allen anderen Freunden und Bekannten, die ich hier nicht erwähnt habe und die mir auf dem Weg zur Fertigstellung der Arbeit geholfen haben.

Besonderer Dank gilt auch meiner Familie, die mir während des ganzen Studiums immer einen Ort bot, an dem ich etwas Abstand und neue Energie gewinnen konnte und die mir dieses Studium erst ermöglichte.

EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind, mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Prof. Dr. med. G. Hein, Dr. rer. nat. A. Müller.

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für meine Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, 27.01.2002

Christian Bölzner

LEBENS LAUF

Name: Christian Bölzner
 Anschrift: Karl Liebknecht Straße 75
 07749 Jena
 Geburtsdatum/-ort: 14.04.1975; in Baden-Baden
 Familienstand: ledig
 Nationalität: deutsch

Schulbildung

1981-1985 Grundschole, Scheuern
 1985–1994 Gymnasium Gernsbach
 Juni 1994 Abitur

Zivildienst

1994-95 Pflegedienst Innere Medizin/Kreiskrankenhaus Gernsbach

Studium

1995 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Friedrich-Schiller Universität Jena
 zur Zeit Praktisches Jahr, Studiumsabschluss voraussichtlich 06/2002

Jena, 27.01.2002

Christian Bölzner